

ESTUDO *IN VITRO* DA DISSOLUÇÃO ELETROQUÍMICA DE LIMAS
ENDODÔNTICAS FRATURADAS EM CANAIS RADICULARES E DE SEUS
EFEITOS SOBRE A MICROESTRUTURA DENTINÁRIA E VIABILIDADE
CELULAR

Caroline Chavadian Fonseca Amaral Freitas

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Metalúrgica e de Materiais, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Engenharia Metalúrgica e de Materiais.

Orientadores: José Antônio da Cunha Ponciano
Gomes
Fabiola Ormiga Galvão Barbosa

Rio de Janeiro
Março de 2018

ESTUDO *IN VITRO* DA DISSOLUÇÃO ELETROQUÍMICA DE LIMAS
ENDODÔNTICAS FRATURADAS EM CANAIS RADICULARES E DE SEUS
EFEITOS SOBRE A MICROESTRUTURA DENTINÁRIA E VIABILIDADE
CELULAR

Caroline Chavadian Fonseca Amaral Freitas

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO LUIZ
COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA (COPPE) DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM
CIÊNCIAS EM ENGENHARIA METALÚRGICA E DE MATERIAIS.

Examinada por:

Prof. José Antônio da Cunha Ponciano Gomes, D.Sc

Prof^a Fabiola Ormiga Galvão Barbosa, D.Sc

Prof^a Rossana Mara da Silva Moreira Thiré, D.Sc

Prof. Luiz Carlos Pereira, D.Sc

Prof^a Patrícia de Andrade Risso, D.Sc

Prof. José Mauro Granjeiro, D.Sc

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

MARÇO DE 2018

Freitas, Caroline Chavadian Fonseca Amaral

Estudo *in vitro* da dissolução eletroquímica de limas endodônticas fraturadas em canais radiculares e de seus efeitos sobre a microestrutura dentinária e viabilidade celular/ Caroline Chavadian Fonseca Amaral Freitas. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2018.

XIV, 124 p.: il.; 29,7 cm.

Orientadores: José Antônio da Cunha Ponciano Gomes

Fabiola Ormiga Galvão Barbosa

Tese (doutorado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, 2018.

Referências Bibliográficas: p. 81-96.

1. Dissolução eletroquímica. 2. Fratura de limas de níquel-titânio. 3. Microdureza dentinária. 4. Túbulos dentinários 5. Citotoxicidade. I. Gomes, José Antônio da Cunha Ponciano *et al.* II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Metalúrgica e de Materiais. III. Título.

Aos meus pais Marcia e Silvio, ao meu irmão
Rafael e ao meu marido Felipe Freitas.
Tanto amor, carinho, dedicação e suporte me fazem
agradecer todos os dias por ter vocês ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar gostaria de agradecer ao meu orientador José Antônio da Cunha Ponciano Gomes pela oportunidade, pelos seus ensinamentos durante esta etapa da minha formação, pela paciência, e pela amizade.

A Professora Fabiola Ormiga, pela confiança, pela credibilidade, pelos ensinamentos desde a especialização de Endodontia, pela oportunidade, pela paciência, pelo carinho e amizade.

Aos meus pais Marcia e Silvio, pelo amor, dedicação e incentivo durante todas as etapas de minha vida.

Ao meu irmão Rafael, pela amizade, carinho e apoio.

Ao meu marido Felipe, por estar sempre ao meu lado em todos os momentos desde 2004, pelo incentivo, pela ajuda, pela confiança, pela compreensão, carinho e amor. Te amo! Essa vitória também é sua!!!

Aos meus avós, pelo incentivo, pela confiança, pelo carinho e amor.

Aos meus familiares, pelo incentivo e torcida para que esta etapa fosse concluída.

Aos meus sogros Sônia e Claudio, pelo incentivo, pela torcida, pelo carinho.

Aos professores da especialização de Endodontia, Patrícia de Andrade Risso, Marcos Cesar Pimenta de Araújo e Heloisa Carla Dell Santo Gusman pelos seus ensinamentos durante a especialização, pela oportunidade, pelo incentivo, pela confiança, pelo apoio e pela amizade.

Ao Professor Luiz Carlos Pereira, pelos ensinamentos e orientações desde o mestrado.

A Professora Rossana Mara da Silva Moreira Thiré, pelos ensinamentos, pelo apoio e pela amizade.

Ao Professor José Mauro Granjeiro, pelos ensinamentos, pela confiança, pelo apoio e auxílio extremamente importante na execução desta pesquisa.

A equipe do INMETRO, Dr. Leonardo Boldrini, Dra. Thaís Accorsi e Priscila Miranda, obrigada pela ajuda em todas as fases desta pesquisa, pela paciência, pela dedicação. Foi maravilhoso trabalhar e aprender com vocês.

Aos amigos do Laboratório de Corrosão Adriana, Eduardo, Laísa, Janaína, Lília, Juliana, Wellington, Roberto e Lucas pela paciência, ajuda nas horas de dificuldade e por estarem sempre prontos a dividir seus conhecimentos.

Ao técnico Alecir pela constante ajuda, amizade e apoio imprescindível na Tese.

Aos amigos do Laboratório de Biomateriais, pelo acolhimento, pelos momentos de alegria. Especialmente gostaria de agradecer as minhas grandes amigas Bruna e Marianna, pela amizade, pela paciência, pelo carinho, pela compreensão. Obrigada minhas amigas pela amizade e parceria nesses anos. Vou lembrar sempre com carinho das nossas conversas na hora do almoço no laboratório. Bruna saudades do Laboratório de Biopolímeros onde estudamos para as provas do mestrado!!! Mari obrigada pela amizade quando Bruna foi para Irlanda você foi minha companheira!!!

Ao professor Ricardo Tadeu e Olga, pelo apoio, pela ajuda nos ensaios de microtomografia.

A técnica Aline Fernandes, pelo apoio, pela ajuda nos ensaios de absorção atômica.

Ao LNDC, pela ajuda nos ensaios de microdureza.

Ao Programa de Engenharia Metalúrgica e de Materiais pelo apoio a este trabalho.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Resumo da Tese apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Ciências (D. Sc).

ESTUDO *IN VITRO* DA DISSOLUÇÃO ELETROQUÍMICA DE LIMAS
ENDODÔNTICAS FRATURADAS EM CANAIS RADICULARES E DE SEUS
EFEITOS SOBRE A MICROESTRUTURA DENTINÁRIA E VIABILIDADE
CELULAR

Caroline Chavadian Fonseca Amaral Freitas

Março/2018

Orientadores: José Antônio da Cunha Ponciano Gomes

Fabiola Ormiga Galvão Barbosa

Programa: Engenharia Metalúrgica e de Materiais

Diversas técnicas tem sido propostas para a remoção de limas endodônticas fraturadas do interior dos canais radiculares, porém estes métodos apresentam limitações clínicas que podem comprometer o tratamento endodôntico. O objetivo do presente estudo foi avaliar a dissolução eletroquímica de fragmentos de limas em canais radiculares de dentes extraídos utilizando a solução [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L], e os efeitos desta solução e do produto da dissolução contendo NiTi sobre a microdureza e topografia da dentina e viabilidade celular. Os fragmentos de limas foram parcialmente dissolvidos no terço médio do interior de canais radiculares, o que possibilitou a ultrapassagem e recuperação do trajeto original dos canais radiculares. A dissolução eletroquímica promoveu uma redução significativa no volume dos fragmentos no interior dos canais radiculares, quando comparado com o grupo controle ($p < 0,01$). A solução de [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] utilizada no processo de dissolução não alterou a microdureza dentinária e a área média dos túbulos dentinários, quando comparada com a solução de EDTA ($p < 0,05$). A solução de [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] e o produto da dissolução contendo íons de NiTi, apresentaram níveis de citotoxicidade menores quando comparados com o hipoclorito de sódio, nas diluições de 25 e 50% ($p < 0,01$). A técnica proposta no presente estudo é promissora e de grande relevância clínica para a ultrapassagem pelo fragmento de lima do interior dos canais radiculares.

Abstract of Thesis presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Science (D. Sc.)

IN VITRO STUDY OF THE ELECTROCHEMICAL DISSOLUTION OF FRACTURED ENDODONTIC FILES IN ROOT CANAL AND THE EFFECTS ON DENTINE MICROSTRUCTURE AND CELL VIABILITY

Caroline Chavadian Fonseca Amaral Freitas

March/2018

Advisors: José Antônio da Cunha Ponciano Gomes

Fabiola Ormiga Galvão Barbosa

Department: Metallurgic and Materials Engineering

Several techniques have been proposed for the removal of fractured nickel-titanium files from inside the root canals, however, these methods present clinical limitations that may jeopardize the endodontic treatment. The aim of the present study was to investigate the electrochemical dissolution of fragments of endodontic files from inside the root canal of extracted teeth, using the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution, and the effects of this solution and its product containing NiTi on the microhardness and topography of the dentine and cell viability. The fragments of endodontic files were partially dissolved in the middle third of the root canals, enabling the possibility to bypass the fragment and recover the original path of the root canals. The electrochemical dissolution induced a significant reduction on the volume of the fragments inside the root canals, when compared with the control group ($p < 0,01$). The [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution used on the electrochemical dissolution process did not change the dentine microhardness and the mean area of the dentine tubules, when compared with the EDTA solution ($p < 0,05$). The [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution and the dissolution product containing NiTi ions, presented a lower levels of cytotoxicity when compared with the sodium hypochlorite, at the 25 % and 50 % dilutions ($p < 0,01$). The technique proposed in the present study is promising and with a great clinical relevance to bypass fractured endodontic files from inside the root canals.

ÍNDICE

I. Introdução.....	1
--------------------	---

CAPÍTULO I

1. Revisão de Literatura.....	5
1.1. Tratamento Endodôntico.....	5
1.2. Instrumentos Endodônticos Rotatórios de níquel-titânio (NiTi).....	6
1.3. Fratura de Instrumentos Endodônticos.....	7
1.4. Soluções Irrigadoras.....	8
1.5. Capacidade de limpeza das soluções irrigadoras.....	11
1.6. Desmineralização da dentina pelas soluções irrigadoras.....	15
1.7. Influência das soluções irrigadoras na microdureza da dentina.....	17
1.8. Citotoxicidade das soluções irrigadoras.....	24
1.9. Métodos utilizados para remoção ou ultrapassagem de fragmentos de lima.....	30
1.10. Métodos de ultrapassagem pelo fragmento de lima que utilizam eletrodos.....	34

CAPÍTULO II

1. Desenvolvimento do método de dissolução eletroquímica de fragmentos em canais radiculares.....	41
1.1. Introdução e Objetivo.....	41
2. Materiais e Métodos.....	42
2.1. Técnica eletroquímica de dissolução de fragmentos de limas de níquel-titânio em canais radiculares simulados.....	42
2.2. Técnica eletroquímica de dissolução de fragmentos de limas de níquel-titânio em canais radiculares.....	44
2.3. Análise estatística.....	47
3. Resultados.....	48
3.1. Técnica eletroquímica de dissolução de fragmentos de lima ProTaper F1 em canais simulados.....	48

3.2. Técnica eletroquímica de dissolução de fragmentos de lima ProTaper F1 em dente extraído.....	49
4. Discussão.....	54

CAPÍTULO III

1. Avaliação dos efeitos da solução eletroquímica de limas endodônticas de níquel-titânio sobre a estrutura dentinária, microdureza e viabilidade celular.....	59
1.1. Introdução e Objetivo.....	59
2. Materiais e Métodos.....	60
2.1. Ensaio de microdureza da dentina.....	60
2.2. Análise da dentina por MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura).....	62
2.3. Ensaio de citotoxicidade.....	63
2.3.1. Preparo das soluções.....	63
2.3.2. Preparo do sistema de teste.....	64
2.3.3. Preparo do extrato.....	65
2.3.4. Cultura de células.....	66
2.3.5. Ensaio de MTT para viabilidade celular.....	67
2.4. Análise estatística.....	67
3. Resultados.....	68
4. Discussão.....	73

CAPÍTULO IV

1. Conclusões.....	79
2. Sugestões para trabalhos futuros.....	80

Referências Bibliográficas.....	81
---------------------------------	----

ANEXO I.....	97
--------------	----

ANEXO II.....	99
---------------	----

ANEXO III.....	119
----------------	-----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ilustração das etapas do tratamento endodôntico. (a) Acesso a câmara pulpar; (b) Remoção da polpa; (c) Preparo Químico – Mecânico dos canais radiculares com uso de lima de aço inoxidável manual;(d) Obturação dos canais radiculares.....	6
Figura 2. Análise ao microscópio óptico de limas de NiTi K3 (ORMIGA <i>et al.</i> 2010)	36
Figura 3. Imagens radiográficas de um fragmento de lima submetido à polarização no interior de um canal simulado (BARBOSA, 2010).....	36
Figura 4. (A) Dispositivo desenvolvido na confecção dos fragmentos embutidos; (B) cilindros de PVC com as limas embutidas; (C) lima embutida seccionada (SICILIANO, 2008)(Figura adaptada de ORMIGA et al., 2011).....	38
Figura 5. Imagens radiográficas de um fragmento de lima submetido à polarização no interior de um canal simulado (AMARAL et al., 2015).....	39
Figura 6. Preparo do bloco de resina para os ensaios de dissolução eletroquímica	43
Figura 7. Eletrodos de platina utilizados no processo de dissolução eletroquímica de limas.....	43
Figura 8. Esquema de uma célula com 2 eletrodos utilizada nos ensaios de dissolução eletroquímica de limas fraturadas em canais simulados.....	44
Figura 9. Preparo do dente para os ensaios de dissolução eletroquímica.....	46
Figura 10. Esquema de uma célula com 2 eletrodos utilizada nos ensaios de dissolução eletroquímica de limas fraturadas em canais radiculares.....	47
Figura 11. Corrente registrada durante aplicação de +1V a um fragmento de lima de níquel-titânio (ProTaper F1) no terço médio de um canal simulado.....	48
Figura 12. Imagens radiográficas do bloco de resina com fragmento de lima ProTaper F1 no terço médio do canal simulado.....	49
Figura 13. Corrente registrada durante a aplicação de +1V à fragmentos de lima de níquel-titânio (ProTaper F1) no terço médio de um canal radicular.....	50
Figura 14. Imagens radiográficas de um molar superior com fragmento de lima ProTaper F1 no terço médio do canal disto-vestibular	51
Figura 15. Imagem representativa da microtomografia computadorizada de um molar superior com fragmento de lima ProTaper F1 no terço médio do canal radicular antes (A) e após (B) o processo de dissolução eletroquímica.....	52

Figura 16. (A-D) Sequência de clivagem longitudinal do dente. (E) Amostra embutida em resina epóxi com a superfície de clivagem e a parede do canal expostas.....	61
Figura 17. (A) Microdurometro de dureza Vickers. (B) Imagem representativa do método de edentação no terço cervical do canal radicular.....	61
Figura 18. (A) Metalizador. (B) Preparo das amostras antes da metalização. (C) Amostras após a metalização. (D) Imagem representativa da contagem e determinação da área dos túbulos dentinários através do software Image Pro Plus 6.0.....	63
Figura 19. Célula eletroquímica de três eletrodos utilizadas nos ensaios de amperometria. CE= contra-eletrodo; WE= eletrodo de trabalho (lima ProTaper F1 de NiTi); RE= eletrodo de referência.....	64
Figura 20. Esquema representativo do sistema de teste utilizado para avaliação da citotoxicidade, ilustrando um poço de uma placa de 48 poços.....	65
Figura 21. Micrografias eletrônicas de varredura representativas avaliando a morfologia da dentina radicular após o tratamento com água destilada (Grupo I - a, e, i); EDTA 17% (Grupo II - b, f, j); solução de [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] (Grupo III - c, g, k); e EDTA 17% + solução de [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] (Grupo IV - d, h, l); terço cervical (a, b, c, d), terço médio (e, f, g, h) e terços apical (i, j, k, l).....	70
Figura 22. Percentual relativo de viabilidade de fibroblasto (%) após 24 horas de exposição a diferentes concentrações de extrato (100, 50, 25 e 12,5%).....	72

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Análise através de micro-CT de fragmentos de limas antes e após o processo de dissolução eletroquímica utilizando a solução de [NaF 12g/L + NaCl 1g/L].....	53
Tabela 2. Teste de microdureza Vickers (HV) da dentina do canal radicular nos terços cervical (C), médio (M) e apical (A) antes e após o tratamento e variação de microdureza (Δ HV).....	69
Tabela 3. Número (N) e área (A) dos túbulos da dentina nos terços da raiz cervical, média e apical.....	71

ÍNDICE DE SIGLAS

ECS	Eletrodo de calomelano saturado
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra acético
H	Eletrodo de hidrogênio
iRS	Instrument Removal System
PUI	Irrigação ultrassônica passiva
Lima K	Lima Kerr
Lima H	Lima Hedstroen
NaCl	Cloreto de sódio
NaF	Fluoreto de sódio
NaOCl	Hipoclorito de sódio
NiTi	Níquel- titânio
S.I.R	Separated Instrument retrieval System
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
SFB	Soro Fetal Bovino
micro-CT	Microtomografia Computadorizada

I. Introdução

Durante o preparo químico-mecânico dos canais radiculares pode ocorrer a fratura de instrumentos endodônticos, o que dificulta a adequada limpeza e modelagem do sistema de canais radiculares. Na literatura vários métodos são descritos para a remoção mecânica de limas fraturadas do interior de canais radiculares (MASSERANN, 1971; FELDMAN et al., 1974; FORS et al., 1983; ROIG-GREENE, 1983; WEISMAN, 1983; KRELL et al., 1984; NAGAI et al., 1986; HULSMANN, 1993; HULSMANN, 1994; RUDDLE, 1997; SUTER, 1998; ELEAZER et al., 1999; OKIJI, 2003; TERAUCHI et al., 2006; YANG et al., 2017), porém estes métodos apresentam limitações e podem resultar na fragilização e perfuração da raiz remanescente.

Ormiga et al. (2010) propuseram um método de remoção de fragmentos metálicos do interior de canais radiculares através da dissolução eletroquímica destes fragmentos. De acordo com os autores, o método consiste na utilização de dois eletrodos imersos na solução, um atuando como anodo e outro como catodo. O contato entre a lima fraturada e o eletrodo usado como anodo é necessário para que o processo de dissolução ocorra. Uma diferença de potencial eletroquímico adequada é aplicada entre os dois eletrodos, o que resulta na migração dos elétrons do anodo para o catodo e, por conseguinte, na liberação de íons metálicos na solução (ORMIGA et al., 2010). Neste contexto, Aboud et al. (2014) e Ormiga et al. (2015) observaram a dissolução parcial limas de NiTi K3, ProTaper e Mtwo no interior de canais simulados após a aplicação do potencial de +0,6 V_{ECS}, em solução de [NaF 12g/L + NaCl 1g/L], pH=5,0 por 60 minutos, o que permitiu a recuperação do trajeto original do canal com a utilização de uma lima tipo K #10 (ABOUD et al., 2014; ORMIGA et al., 2015). Amaral et al. (2015) demonstraram também a dissolução parcial de limas de liga de aço inoxidável no interior de canais simulados após a aplicação de um potencial de +0,5V_{ECS} em solução [NaF 5g/L + NaCl 175,5g/L], pH=5,0 por 60 minutos, permitindo a recuperação do trajeto original do canal (AMARAL et al., 2015). Recentemente, um estudo similar demonstrou através da microscopia eletrônica de varredura e radiografia a redução do comprimento de fragmentos fraturados após a clivagem longitudinal das raízes de incisivos inferiores utilizando o processo de dissolução eletroquímica (KOWALCZUCK et al., 2017).

Logo o uso de soluções de fluoreto de sódio (NaF) e cloreto de sódio (NaCl) durante o processo de dissolução eletroquímica foi descrito como promissor para a ultrapassagem de limas fraturadas dentro dos canais radiculares simulados (ORMIGA et al., 2010; ABOUD et al., 2014; AMARAL et al., 2015; ORMIGA et al., 2015) e na

redução do comprimento dos fragmentos de limas em canais radiculares de incisivos inferiores (KOWALCZUCK et al., 2017). No entanto, estes estudos estão distantes de uma situação clínica, uma vez que, os canais radiculares simulados e canais radiculares dos incisivos inferiores foram completamente imersos na solução teste. A solução utilizada deveria ter sido restrita a câmara pulpar. Logo, mais estudos em dentes são necessários adaptando a metodologia utilizada no sentido de viabilizar o seu uso clínico.

As soluções que contêm fluoreto e cloreto são amplamente utilizadas na Odontologia para vários fins, como a remineralização das estruturas dentinárias (GONZALES et al., 2011) e a desinfecção do canal radicular (ZEHNDER, 2006). Portanto, a escolha das soluções contendo fluoreto e cloreto no processo de dissolução eletroquímica baseou-se em soluções que são comumente usadas em várias áreas da Odontologia (ABOUD et al., 2014). No entanto, essas soluções devem ter baixa reatividade com a dentina radicular, bem como baixo potencial citotóxico, para permitir sua aplicação clínica.

As propriedades estruturais da dentina, como a microdureza, podem ser alteradas após o contato com irrigantes químicos (ASLANTAS et al., 2014). Sabe-se que os irrigantes químicos, incluindo as soluções de hipoclorito de sódio (NaOCl) e ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), que são frequentemente utilizados no interior dos canais radiculares, podem prejudicar a estrutura dentinária, alterando a composição química e a relação cálcio / fósforo da superfície dentinária, o que pode induzir erosão e redução da dureza da dentina (BARBOSA et al., 1994; QIAN et al., 2011; DINESHKUMAR et al., 2012; ASLANTAS et al., 2014; TUNCER et al., 2015). Durante o processo de dissolução eletroquímica, a solução [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] permanece em contato com a dentina durante 1 h; portanto, é importante avaliar os possíveis efeitos desta solução nas estruturas dentinárias.

Durante o tratamento endodôntico as soluções irrigadoras podem entrar em contato com os tecidos periapicais podendo causar complicações devido ao seu potencial citotóxico (ALKAHTANI et al., 2014). Na literatura estudos mostram que as soluções de hipoclorito de sódio (NaOCl) e o ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) são amplamente utilizadas durante o tratamento endodôntico e apresentam um efeito citotóxico para as células podendo causar danos aos tecidos (CHANG et al., 2001; MARINS et al., 2012; ALKAHTANI et al., 2014). Recentemente, demonstrou-se que as soluções de NaF contendo NiTi têm potencial para a citotoxicidade em um protocolo experimental usando células de ligamento periodontal após um período de exposição de

24 horas (MITCHELL et al., 2013). No entanto, os protocolos experimentais utilizados por esses autores são bastante distintos de uma situação clínica real, onde a área de contato entre as soluções e o ligamento periodontal é anatomicamente restrita e o tempo de exposição tende a não exceder 2 h. Uma avaliação clinicamente mais relevante é um requisito básico para garantir a segurança do método de dissolução eletroquímica (ORMIGA et al., 2010).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi estudar o processo de dissolução eletroquímica de limas de NiTi utilizando molares superiores. Além disso, avaliar os efeitos da solução [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] utilizada no processo de dissolução eletroquímica de limas endodônticas fraturadas, bem como seu produto contendo NiTi, na microdureza da dentina, topografia e viabilidade de fibroblastos humanos. A hipótese principal é que a solução [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] dissolva limas de NiTi em molares superiores, apresente níveis aceitáveis de citotoxicidade e não afete a dureza dentinária, nem o número e a área média dos túbulos dentários.

CAPÍTULO I

1. Revisão de Literatura

1.1. Tratamento Endodôntico

O tratamento endodôntico é indicado em casos de inflamação irreversível da polpa, necrose pulpar e por finalidade protética. A polpa dental encontra-se asséptica dos micro-organismos presentes na cavidade bucal, estando isolada pelo esmalte e dentina na coroa dentaria e pelo cimento e dentina na porção radicular. No entanto, quando a polpa é exposta à cárie dental desencadeia um processo inflamatório que pode ocasionar a rápida degeneração e necrose pulpar sendo necessário o tratamento endodôntico (COHEN, 2007). O objetivo principal da terapia endodôntica é eliminar, ou pelo menos reduzir o número de micro-organismos, e ainda remover o tecido pulpar inflamado ou necrótico, presente no interior do sistema de canais radiculares (THOMAS et al., 2010).

Para que isso ocorra é necessário que haja um correto preparo químico-mecânico seguido por uma obturação tridimensional. Este tratamento consiste no acesso à câmara pulpar com remoção da cárie existente, remoção da polpa dental, preparo químico-mecânico com utilização de limas endodônticas e auxílio de substâncias irrigadoras como NaOCl 5,25% e obturação tridimensional do sistema de canais radiculares com um elastômero denominado guta-percha junto com um cimento endodôntico (Figura 1).

O tratamento endodôntico pode ser realizado em única ou múltiplas sessões, dependendo da condição pulpar e/ou periapical. Nos casos em que o dente apresenta-se com vitalidade pulpar (Biopulpectomia) é indicado que o tratamento seja realizado em uma única sessão, já em casos de necrose pulpar ou retratamento endodôntico, é indicado que o tratamento seja realizado em mais de uma sessão, utilizando uma medicação intracanal entre as sessões com a finalidade de maximizar a desinfecção e aumentar a chance de reparo periapical (TROPE et al., 1999; TROPE, 2002).

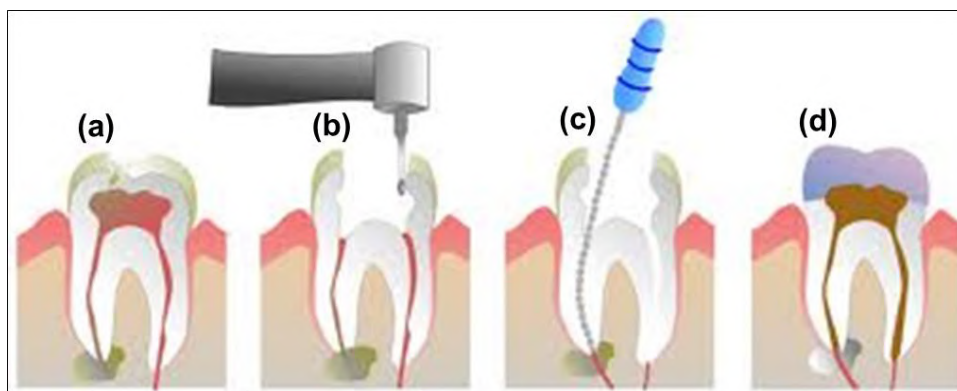


Figura 1. Ilustração das etapas do tratamento endodôntico. (a) Acesso a câmara pulpar; (b) Remoção da polpa; (c) Preparo Químico – Mecânico dos canais radiculares com uso de lima de aço inoxidável manual; (d) Obturação dos canais radiculares. (Figura adaptada de <http://www.odontologiaintegral.com.br>– 07-03-2018).

1.2. Instrumentos Endodônticos Rotatórios de níquel-titânio (NiTi)

Os instrumentos endodônticos são empregados como agentes mecânicos preparo químico-mecânico de canais radiculares. São fabricados com liga níquel-titânio (NiTi) ou aço inoxidável (LOPES & SIQUEIRA, 2015). Com a introdução da liga de NiTi na Endodontia e posterior desenvolvimento dos instrumentos rotatórios, diversos estudos têm demonstrado a superioridade e rapidez destes no preparo químico-mecânico (AHLQUIST et al., 2001; ANKRUM et al., 2004; SCHAFER et al., 2004; CAMARA et al., 2008; BARATTO-FILHO et al., 2009).

As ligas de NiTi apresentam excelentes propriedades das quais os instrumentos endodônticos dependem. Estas propriedades são denominadas efeito memória de forma e superelasticidade, e estão relacionadas com a transformação de fases ocorrida entre duas diferentes estruturas cristalinas: a estrutura cristalina cúbica de corpo centrado (CCC) da austenita e a estrutura cristalina monoclínica da martensita.

Algumas ligas que apresentam uma transformação martensítica cristalograficamente reversível desenvolvem, também, o efeito memória de forma. Isto ocorre como resultado da transformação martensítica, que consiste na mudança de fase austenita para uma fase martensita auto-acomodada reversível, sob efeito de mudanças na temperatura e tensão (THOMPSON, 2000; DAYANANDA & RAO SUBBA, 2008).

No caso da memória de forma a transformação martensítica é induzida pela redução da temperatura e permite a deformação do material. Quando novamente aquecido o material retorna à fase austenita e recupera a sua forma original. A indução da

transformação martensítica também pode ocorrer pela tensão e o retorno para a fase austenita ocorrerá com a remoção da tensão. Quando isso acontece o comportamento é chamado superelástico ou pseudoelástico (HODGSON, 1992; THOMPSON, 2000). A superelasticidade da liga NiTi é uma característica resultante da transformação de fase da liga a uma temperatura constante onde, quando aplicada uma tensão, a fase da austenita se apresenta estável, se deforma-se transformando em uma estrutura martensítica induzida por tensão. Quando a aplicação de tensão é removida, ocorre a transformação reversa retornando a estrutura austenítica. Quando a tensão é liberada, a martensita se transforma outra vez em austenita e a amostra retorna à sua forma original. Este é um evento isotérmico por natureza e que envolve o armazenamento de energia potencial. Neste caso, a transformação de fase reversível é induzida por tensão. Sobre a tensão de 8% o NiTi pode ser recuperado por descarga. Tensões acima do valor limite acarretarão numa deformação plástica permanente (OTSUKA, 1998). Contrariamente ao efeito de memória de forma, a superelasticidade não ocorre com a mudança de temperatura (SCHAEFFER, 2006).

1.3. Fratura de Instrumentos Endodônticos

A fratura dos instrumentos endodônticos pode ocorrer após o uso excessivo dos instrumentos. Além disso, alguns defeitos podem ser encontrados nos instrumentos advindos do seu processo de fabricação. Esses defeitos podem atuar como concentradores de tensão levando a fratura dos instrumentos durante o uso. A fratura das limas de NiTi rotatórias pode ocorrer por dois tipos principais de tensionamento: por flexão e por torção. Já as fraturas das limas tipo K de aço inoxidável ocorrem por torção, dobramento ou pela combinação destes (LOPES & SIQUEIRA, 2015).

Os instrumentos endodônticos são submetidos a constantes e intensos estados de tensão e deformação durante o preparo químico-mecânico do canal radicular. A fratura dos instrumentos pode estar relacionada ao tipo de material empregado, à geometria do instrumento, seus defeitos pré-existentes, à anatomia do canal e à habilidade do profissional (LOPES & SIQUEIRA, 2015).

As curvaturas radiculares, especialmente nos terços apicais, são em grande parte responsáveis pela alta incidência de fratura dos instrumentos endodônticos. Schneider (1971) foi um dos primeiros autores a formular uma metodologia para determinar curvaturas de canais radiculares utilizando radiografias de diagnóstico afim de que se

conseguisse uma visualização dessas curvaturas tentando diminuir eventuais acidentes durante o preparo químico-mecânico dos condutos radiculares (SCHNEIDER, 1971).

Pruett et al. (1997) analisaram a incidência de fratura de instrumentos endodônticos quando utilizados em raízes curvas e observaram que a fratura ocorre sempre no ponto de maior curvatura (PRUETT et al., 1997). Tzanetakis et al. (2008) avaliaram um alto índice de fratura no terço apical quando comparado aos terços médio e cervical, sendo que de acordo com Ruddle (2004), as fraturas ocorrem na maioria das vezes nos 3 a 5 mm apicais do canal, uma vez que é esta região onde os canais apresentam maiores curvaturas (RUDDLE, 2004; TZANETAKIS et al., 2008). Do mesmo modo, Zelada et al. (2002), Spili et al. (2005), Wolcott et al. (2006) e Iqbal et al. (2006 a), observaram uma maior incidência de fratura no terço apical de dentes posteriores e inferiores. Neste contexto, é possível concluir que a anatomia dos canais radiculares pode influenciar na incidência de instrumentos fraturados (ZELADA et al., 2002; SPILI et al., 2005; IQBAL et al., 2006; WOLCOTT et al., 2006).

1.4. Soluções Irrigadoras

Durante o preparo químico-mecânico dos canais radiculares, soluções irrigadoras são importantes pois promovem a dissolução de tecidos orgânicos vivos ou necrosados, ajudam na eliminação ou máxima redução de micro-organismos, agem como lubrificantes, favorecem a quelatação de íons cálcio e auxiliam na suspensão de detritos advindos do preparo químico-mecânico. O irrigante ideal deve possuir forte efeito antibacteriano, dissolver tecidos necróticos e não lesar os tecidos periapicais.

Inúmeras soluções químicas já foram recomendadas como auxiliares ao preparo químico-mecânico dos canais radiculares. Porém, o NaOCl continua sendo a substância mais utilizada e indicada durante a terapia endodôntica (HAAPASALO et al., 2014). Entretanto, outras substâncias, como a clorexidina, vêm sendo preconizadas como substâncias auxiliares no preparo dos canais radiculares (MOHAMMADI et al., 2009). Outra aplicação de substâncias químicas no tratamento endodôntico visa a remoção da “smear layer”, que é uma camada formada devido ao atrito dos instrumentos com as paredes do canal. São compostas por materiais inorgânicos, como raspas de dentina, e orgânicos, entre eles restos de tecido pulpar e bactérias (MCCOMB et al., 1975). As soluções mais utilizadas para esse fim são: o ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 17% e o ácido cítrico 10% (DE-DEUS et al., 2006; SPANO et al., 2009).

Em 1936, Walker propôs a utilização do NaOCl na irrigação dos canais radiculares (WALKER, 1922). Grossman em 1941 difundiu sua utilização no preparo químico-mecânico dos canais radiculares como solução irrigadora (GROSSMAN, 1941). O NaOCl é constantemente utilizado no preparo dos canais radiculares para irrigação e desinfecção dos mesmos pois só preparo com as limas não é capaz de promover a limpeza devido ao canal radicular apresentar inúmeras ramificações além dos canais principais.

O NaOCl é um efetivo agente antimicrobiano, solvente de matéria orgânica e desodorizante. Possui baixa tensão superficial e amplo espectro de ação. Age pela inibição de cadeias enzimáticas, desnaturação de proteínas e inativação de ácidos nucleicos. É a solução irrigadora mais utilizada e também a mais eficaz na dissolução de remanescentes pulpares, sendo o único irrigante capaz de dissolver tecido orgânico necrosado e vivo. Apesar de o NaOCl por si só não remover a “smear layer”, ele torna possível a sua remoção completa pela irrigação posterior com ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA) ou o ácido cítrico (SIQUEIRA et al., 1997; HAAPASALO et al., 2010). No entanto, o uso da solução de NaOCl pode apresentar desvantagens como o sabor desagradável, citotoxicidade em altas concentrações e sua incapacidade de remover a “smear layer”.

O EDTA é utilizado na terapia endodôntica desde 1957 (NYGAARDY-OSTBY, 1957). É composto por um pó branco, cristalino, insolúvel e inodoro que possui quatro grupos acéticos ligados ao etilenodiamino. Devido a sua baixa solubilidade em água, a quantidade de íons que libera é mínima e por isso tem sido convertido em sais dissódicos, trissódicos ou tetrassódicos, através do acréscimo de hidróxido de sódio a sua fórmula. O valor do pH do EDTA é em torno de 7,4. Quanto maior a quantidade de átomos de sódio em substituição ao átomo de hidrogênio, maior a solubilidade do composto e maior o poder de descalcificação (VOGEL, 1992; SOUZA, 2005). A reação do sal do EDTA com o íon cálcio da dentina resulta no complexo EDTA- Ca estável, responsável por desmineralizar a dentina e remover a camada de “smear layer” (CRUZ FILHO, 1998).

Na prática clínica, o hipoclorito de sódio é normalmente associado a um agente quelante para que a porção inorgânica da “smear layer” seja removida (ZEHNDER, 2006). A associação do EDTA ao NaOCl ao final do preparo químico-mecânico dos canais radiculares é reconhecida como um eficiente protocolo para a remoção de “smear layer” e consequente aumento da permeabilidade dentinária (GUERISOLI et al., 2002; SAYIN et al., 2007).

A clorexidina é uma bisguanida catódica sintética, praticamente insolúvel em água e que possui atividade antimicrobiana excelente numa faixa de pH de 5,5 e 7. Essa ação ocorre devido à interação da molécula de clorexidina, que é catiônica, com a membrana celular bacteriana, que é carregada negativamente (RUSSELL et al., 1993). Quando a clorexidina é empregada em baixas concentrações, ocorre a ruptura da membrana celular da bactéria, permitindo a saída de substâncias de baixo peso molecular, como o fósforo e o potássio. A clorexidina pode inibir a atividade de algumas enzimas, como a adenosina trifosfatase. Tais mecanismos representam o efeito bacteriostático da substância (SIQUEIRA et al., 1997; LOPES, 1999). Em função deste grau de atividade, pequenas concentrações de sais de clorexidina, são geralmente suficientes para inibir o processo reprodutivo ou exterminar a maioria das espécies bacterianas. Além disso, é praticamente isenta de toxicidade e efeitos corrosivos, proporcionando extrema segurança no seu emprego.

A ação bactericida ocorre quando a clorexidina é empregada em altas concentrações e onde a injúria à membrana celular é maior, o que leva ao extravasamento de substâncias de alto peso molecular, como os ácidos nucléicos (SIQUEIRA et al., 1997). A clorexidina mostrou ser ativa em baixas concentrações contra um grande número de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, aeróbicas e anaeróbicas e fungos (DETON, 1991).

Outra propriedade da clorexidina é a substantividade, ou seja, ela mantém sua ação antibacteriana por tempo prolongado. Isto se deve à sua capacidade de absorção, isto é, aderir-se a substratos aniônicos, como a hidroxiapatita, à película dental adquirida, glicoproteínas salivares e membranas mucosas. A substância é, lentamente liberada à medida que sua concentração decresce no meio, resultando em prolongado efeito antibacteriano (LOPES, 1999; GOMES et al., 2013). Porém essa propriedade depende da sua concentração e do tempo de aplicação da clorexidina sendo necessária a sua utilização por 7 dias.

A Clorexidina pode ser utilizada em duas diferentes formas: líquida e gel, e em diferentes concentrações, sendo as mais comuns: 0,12% (utilizada como enxaguatório bucal) e 2% (utilizada como substância irrigadora e medicação intracanal). A clorexidina quando está em forma de gel apresenta a capacidade de remover “smear layer” (GOMES et al., 2013).

1.5. Capacidade de limpeza das soluções irrigadoras

Scelza et al. (2000) determinaram, *in vitro*, o grau de remoção de restos dentinários e “smear layer” de canais radiculares após a irrigação final de 4 minutos com: G1- hipoclorito de sódio 1% + ácido cítrico 10% + água destilada; G2- hipoclorito de sódio 0,5% + EDTA-T; e G3- hipoclorito de sódio 5% + H₂O₂ 3% + hipoclorito de sódio 5%. A análise foi feita por microscopia eletrônica de varredura e a avaliação de acordo com o número de túbulos dentinários abertos. O mais elevado número de túbulos visíveis nos três grupos ocorreu no terço cervical, seguido pelos terços médio e apical. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos 1 e 2 quando os terços foram comparados entre si. Os grupos 1 e 2 tiveram túbulos dentinários significativamente mais visíveis do que o grupo 3 (SCELZA et al., 2000).

Gesteira et al. (2003) avaliaram, *in vitro*, a ação do EDTA sobre a “smear layer” nos terços cervical, médio e apical do canal radicular, por microscopia eletrônica de varredura. As concentrações de EDTA utilizadas foram de 3%, 5%, 10 e 17% por 1 e 3 minutos. Os autores concluíram que os terços médio e cervical apresentaram superfícies mais limpas que o terço apical independente das concentrações e tempo de aplicação utilizados (GESTEIRA, 2003).

Torabinejad et al. (2003) avaliaram o efeito de várias concentrações de hipoclorito de sódio antes do uso do MTAD na habilidade de remover “smear layer”. Os grupos avaliados foram: grupo 1: solução irrigadora durante o preparo - água destilada, solução final - água destilada; grupo 2: solução irrigadora durante o preparo- hipoclorito de sódio a 5,25%, solução final- EDTA a 17%; grupo 3: solução irrigadora durante o preparo- hipoclorito de sódio a 5,25%, solução final- hipoclorito de sódio a 5,25%; grupo 4: solução irrigadora durante o preparo- água destilada, solução final- MTAD; grupo 5: solução irrigadora durante o preparo- MTAD, solução final- MTAD; grupo 6 : solução irrigadora durante o preparo- hipoclorito de sódio a 0,65%, solução final- MTAD; grupo 7: solução irrigadora durante o preparo- hipoclorito de sódio a 1,3%, solução final- MTAD; grupo 8: solução irrigadora durante o preparo- hipoclorito de sódio a 2,6%, solução final- MTAD e grupo 9: solução irrigadora durante o preparo- hipoclorito de sódio a 5,25%, solução final- MTAD. Os autores concluíram que, quando utilizado durante o preparo químico mecânico, o MTAD promoveu maior capacidade de remoção da “smear layer”, mas alguns remanescentes de tecido orgânico permaneceram no canal. A maior efetividade dessa substância é obtida quando concentrações baixas de hipoclorito de sódio são utilizadas como irrigantes durante o preparo e antes de sua utilização como

irrigante final e que os regimes de irrigação não mostraram diferenças significativas quanto a estrutura dos túbulos dentinários (TORABINEJAD et al., 2003).

Scelza et al. (2004) avaliaram a capacidade de remoção de “smear layer” do ácido cítrico 10%, EDTA 17% e EDTA-T nos intervalos de tempo de 3, 10 e 15 minutos por microscopia eletrônica de varredura. Os resultados foram avaliados a partir do número de túbulos abertos. Os autores concluíram que as três soluções, nos três tempos testados, foram eficazes na remoção de “smear layer” (SCELZA et al., 2004).

Souza et al. (2005) avaliaram a capacidade de limpeza das paredes dos canais radiculares no terço apical quando irrigados com EDTA 17% e EGTA 1% alternados com hipoclorito de sódio 1% na proporção 1:1. Vinte dentes incisivos centrais inferiores foram utilizados no experimento, divididos em dois grupos de acordo com a solução irrigante utilizada no preparo químico-mecânico da seguinte forma: grupo 1- EDTA 17% e grupo 2- EGTA 1%, ambos utilizaram o hipoclorito de sódio 1% associado a irrigação. Os resultados mostraram que nenhuma das soluções irrigantes testadas foi capaz de remover completamente os detritos das paredes apicais do canal radicular. A ação do EDTA 17% foi estatisticamente superior a do EGTA 1% (SOUZA, 2005).

Teixeira et al. (2005) avaliaram o efeito do EDTA 15% e do hipoclorito 1% na remoção da “smear layer” nos tempos de 1, 3 e 5 minutos por microscopia eletrônica de varredura. Os resultados mostraram que a “smear layer” foi completamente removida dos terços cervical e médio, porém no terço apical a superfície dentinária estava parcialmente recoberta por essa camada. Os autores concluíram que a efetividade na remoção da “smear layer” foi igual nos três tempos avaliados nos diferentes grupos (TEIXEIRA et al., 2005).

Marques et al. (2006) avaliaram a capacidade de remoção de “smear layer” e de íons cálcio da dentina radicular após irrigação com 3 soluções quelantes. Dezesesseis caninos foram instrumentados e a cada troca de lima utilizou-se 1mL de solução quelante conforme os grupos: G1- EDTAC 17%, G2- CDTA 17%, G3- EGTA 17%. Ao final do preparo químico-mecânico foram coletados 8 mL de cada solução, os quais foram levados ao espectrofotômetro de absorção atômica para análise da quantidade de íons cálcio presentes. As raízes foram seccionadas longitudinalmente para avaliação em MEV. Os resultados mostram que o EDTAC e o CDTA removeram a “smear layer” e cálcio da dentina de forma mais eficiente do que o EGTA. Não houve diferença entre os terços quanto à limpeza (MARQUES et al., 2006).

Sayin et al. (2007) determinaram a extensão do cálcio removido da dentina após o emprego de EDTA 17%, EGTA 17%, EDTAC 15% e Tetraciclina HCl 1% com e sem o uso de irrigação subsequente com hipoclorito de sódio 2,5% por 1 ou 5 minutos. Os resultados mostraram que as soluções utilizadas sozinhas e combinadas com hipoclorito de sódio 2,5% obtiveram os melhores resultados de remoção de cálcio na dentina, quando comparados com o grupo controle que utilizou água destilada. Os tratamentos realizados em 5 minutos obtiveram melhores resultados comparados a 1 minuto (SAYIN et al., 2007).

Mello et al. (2008) analisaram a influência de diferentes volumes de EDTA 17% como irrigante final na remoção de “smear layer” de diversas áreas do canal. Quarenta dentes foram instrumentados utilizando o sistema rotatório ProTaper e irrigados com hipoclorito de sódio 1% durante o preparo químico mecânico. Então, os dentes foram divididos em quatro grupos: sem irrigação final com EDTA (controle) e irrigação final com 5ml, 10ml ou 15ml de EDTA. Os dentes foram clivados e as análises por microscopia eletrônica de varredura foram realizadas. Os resultados demonstraram que os 3 grupos experimentais não mostraram nenhuma diferença estatística. No entanto, quando os grupos testados foram comparados ao grupo controle foram encontradas diferenças estatisticamente significativas. As superfícies das paredes do canal radicular nos dentes do grupo controle mostraram a presença da “smear layer” densa ao longo de todo o comprimento do canal radicular. Quando foram comparados os terços coronário, médio e apical, não houve diferença estatisticamente significativa. Com base nos resultados, verifica-se que uma irrigação final com 5 ml de EDTA oferece boa remoção de “smear layer”, com paredes livres e principalmente túbulos dentinários abertos em todas as áreas (MELLO et al., 2008).

Prado et al. (2011) investigaram a eficácia do ácido fosfórico 37%, EDTA 17% e ácido cítrico 10% na remoção da camada de “smear layer”. Cinquenta e dois dentes unirradiculares foram acessados e instrumentados. A cada instrumento utilizado, os canais foram irrigados com hipoclorito de sódio. Após o preparo químico-mecânico, os dentes foram irrigados com água destilada e, em seguida, divididos em grupos de acordo com o tempo e substâncias empregadas. As substâncias utilizadas foram EDTA 17%, ácido cítrico 10%, ácido fosfórico a 37% solução e gel. Os tempos utilizados foram de 30 segundos, 1 e 3 minutos. As amostras foram preparadas e observadas por microscopia eletrônica de varredura. Três fotomicrografias foram registradas para cada amostra na região do terço cervical, media e apical. O método de scores foi usado para avaliar as

imagens. Os autores observaram que nenhuma das substâncias analisadas neste estudo foi eficaz para remoção da camada de “smear layer” em 30 segundos. No tempo de 1 minuto, a solução de ácido fosfórico mostrou melhor resultado quando comparado com as outras substâncias avaliadas. No tempo de 3 minutos todas as substâncias foram eficazes nos terços cervical e médio, embora a solução de ácido fosfórico tenha mostrado excelentes resultados, no terço apical. Os resultados apontam uma possibilidade da solução de ácido fosfórico ser um agente promissor para a remoção de “smear layer” (PRADO et al., 2011).

Prado et al. (2013) avaliaram através de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia dispersiva de elétrons (EDS), diferentes protocolos de irrigação sobre a formação da camada de “smear layer”. Cinquenta e cinco dentes foram instrumentados usando água destilada (DW) como irrigante. Em seguida, os dentes foram submetidos a um protocolo para a remoção da camada de “smear layer” produzida. Os dentes foram divididos em 11 grupos, de acordo com o regime de irrigação: G1- NaOCl + DW+ CHX solução; G2- NaOCl + DW+ EDTA+ DW+ CHX solução; G3- NaOCl + DW+ CA+ DW+ CHX solução; G4- NaOCl + DW+ PA+ DW+ CHX solução; G5- CHX gel + DW+ EDTA +DW; G6- CHX gel + DW+ CA +DW; G7- CHX gel + DW+ PA +DW; G8- CHX gel + DW+ EDTA +DW+ CHX solução; G9- CHX gel + DW+ CA +DW+ CHX solução; G10- CHX gel + DW+ PA +DW+ CHX solução e G11- Controle (DW). Em seguida, os dentes foram preparados, e analisados com microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia por dispersão de elétrons. Os resultados mostraram presença de “smear layer” nos grupos 1, 2 e 3. Nos grupos 5,6,7,8,9 e 10 em que o gel de clorexidina foi usada isoladamente ou em associação com EDTA, ácido fosfórico e solução de clorexidina não foi observado qualquer formação de “smear layer” (PRADO et al., 2013).

Coaguila-Llerena et al. (2018) avaliaram através de microscopia eletrônica de varredura a capacidade de limpeza dos canais radiculares utilizando a solução de cloridrato de octenidina (OCT). Sessenta dentes unirradiculares humanos foram distribuídos aleatoriamente em 6 grupos (n=10) de acordo com as soluções irrigantes: G1- cloridrato de octenidina 0,1% (OCT); G2- clorexidina 2% (CHX); G3- hipoclorito de sódio 2,5% (NaOCl); G4- cloridrato de octenidina 0,1% (OCT) + ácido etilenodiaminotetracético 17% (EDTA); G5- NaOCl 2,5% + EDTA 17% e G6- água destilada. Todas as amostras foram instrumentadas utilizando o sistema rotatório ProTaper. Os dentes foram seccionados e preparados para análise por microscopia

eletrônica de varredura. A remoção de “smear layer” foi avaliada utilizando o sistema de escores. Os resultados mostraram que os grupos irrigados com as soluções de OCT, CHX, NaOCl e água destilada foram menos eficazes na remoção de “smear layer” em todos os terços radiculares. Em contraste, quando associado ao EDTA tiveram uma maior eficácia na remoção de “smear layer” ($p < 0,05$). Os autores concluíram que a solução de cloridrato de octenidina 0,1% (OCT) quando utilizada sozinha foi menos efetiva na remoção de “smear layer” e quando associada ao EDTA apresentou maior eficácia na remoção de “smear layer” (COAGUILA-LLERENA et al., 2018).

Neste contexto, é possível concluir que a capacidade de limpeza dos canais radiculares é efetiva quando usado solução de hipoclorito de sódio associado a um agente quelante.

1.6. Desmineralização da dentina pelas soluções irrigadoras

Apesar de possibilitar a remoção de “smear layer”, as soluções quelantes desmineralizam a dentina, o que é indesejável. Serper, et al. (2002) compararam os efeitos das variações da concentração e do pH das soluções de EDTA na desmineralização da dentina. Vinte dentes humanos unirradiculares extraídos foram usados no experimento. Os efeitos das soluções de EDTA nas concentrações de 10% e 17% com pH de 7,5 e 9 na desmineralização da dentina foram determinados pela quantidade de fósforo liberado após 1, 2, 3, 5 e 10 minutos de ação. Os resultados revelaram que a quantidade de fósforo liberada da dentina foi maior quando utilizada a solução mais concentrada de EDTA e quando exposta no tempo maior. O pH das soluções não influenciou significativamente na desmineralização dentinária. Os autores concluíram que, para reduzir os efeitos da erosão dentinária, soluções de EDTA devem ser usadas em concentrações mais baixas e em pH neutro (SERPER et al., 2002).

Çalt, et al. (2000) avaliaram os efeitos do EDTA e do EGTA (Etileno Bis-glicol (β -amino-ester-etil) – ácido tetra acético) na dentina humana, através de microscopia eletrônica de varredura. Os autores concluíram que o “smear layer” foi completamente removido pelo EDTA, porém foi constatada erosão dentinária. O EGTA também removeu o “smear layer”, mas sem provocar erosão dentinária. No entanto, no terço apical, o EGTA não foi capaz de proporcionar uma limpeza adequada (CALT et al., 2000).

Çalt et al. (2002) também avaliaram os efeitos do tempo de aplicação do EDTA na dentina humana, através de microscopia eletrônica de varredura. Os autores concluíram

que, quando aplicado por 1 minuto o EDTA foi eficaz na remoção do “smear layer”. Porém quando aplicado por 10 minutos o EDTA promoveu excessiva erosão da dentina peritubular e intertubular (CALT et al., 2002).

Mai et al. (2010), avaliaram a agressividade diferencial do EDTA 17% na erosão da parede do canal radicular na presença de solução de hipoclorito de sódio 5,25% em diferentes tempos. Foram utilizados dois protocolos de irrigação. Grupo1- NaOCl 5,25% por 10 minutos + neutralização com água deionizada + EDTA 17% por 2 minutos. Grupo 2- NaOCl 5,25% por 60 minutos + neutralização com água deionizada + EDTA 17% por 2 minutos. Grupo controle- solução aquosa. Os resultados mostraram que só houve erosão da dentina quando o dente ficou exposto por 60 minutos à solução de NaOCl 5,25% seguido da irrigação com EDTA 17% por 2 minutos. A agressividade do EDTA está correlacionada com o uso prolongado do NaOCl 5,25% (MAI et al., 2010).

Hu et al. (2010) avaliaram a hipótese das soluções irrigadoras influenciarem nas propriedades físicas da dentina do canal radicular. Vinte dentes anteriores foram seccionados e divididos em quatro grupos com diferentes tratamentos: (1) EDTA 17% por 10 minutos, (2) NaOCl 5,25% por 10 minutos, (3) H₂O₂ 3% por 10 minutos e (4) água destilada como grupo controle. A Microscopia de Força Atômica foi utilizada para medir a rugosidade da superfície. Os resultados mostraram que todas as soluções podem alterar as características físicas da dentina e podem influenciar na adesão (HU et al., 2010).

Qian *et al.* (2011) analisaram o nível de erosão da dentina das paredes dos canais radiculares utilizando diferentes soluções irrigadoras e em sequências alternadas. Os dentes foram instrumentados e divididos em cinco grupos. Cada grupo foi submetido à irrigação com EDTA 17%, EGTA 17%, ácido cítricos 10% e hipoclorito de sódio 5,25%, variando o tempo de exposição e a ordem dos irrigantes. As amostras foram submetidas à avaliação por microscopia eletrônica de varredura. Os resultados mostraram que não houve erosão quando os agentes desmineralizadores foram utilizados no final após a irrigação com hipoclorito de sódio, no entanto foi detectada a erosão da dentina peritubular quando EDTA, EGTA e ácido cítrico foram usados em primeiro lugar antes do hipoclorito (QIAN et al., 2011).

Neste contexto, é possível concluir que a desmineralização da dentina pelas soluções irrigadoras depende da concentração da solução de EDTA utilizada e do tempo de exposição à dentina.

1.7. Influência das soluções irrigadoras na microdureza da dentina

A dureza é uma propriedade bastante utilizada tanto para comparar materiais restauradores como tecidos biológicos. É definida pela resistência do substrato à deformação plástica local e mensurada pela relação entre a força aplicada e a área de edentação. Na odontologia os tipos de microdureza mais utilizados para avaliar a dureza da dentina são: Vickers e Knoop.

A dureza da dentina depende da concentração mineral presente no substrato dentinário, conseqüentemente, os valores de dureza podem variar de acordo com a região da estrutura dentinária. Alguns estudos mostraram uma correlação inversa entre a microdureza e a densidade tubular, sendo que à medida que avançamos em direção a polpa dental, a densidade tubular aumenta enquanto que a microdureza diminui (SHANNON et al., 1976; FEATHERSTONE et al., 1983).

A exposição da dentina a diferentes agentes químicos durante o tratamento odontológico pode ser prejudicial, uma vez que suas propriedades biomecânicas podem sofrer alterações provocadas pela ação desses agentes aplicados sobre a superfície.

A influência dos irrigantes na microdureza da dentina pode ser prejudicial, promovendo alterações na permeabilidade da estrutura dentinária, modificando, também, suas propriedades mecânicas (BARBOSA et al., 1994) Alguns irrigantes endodônticos são capazes de alterar a composição química da dentina e modificar a proporção cálcio/fósforo na superfície. Essas alterações poderiam modificar a proporção original entre componentes orgânicos e inorgânicos, provocando modificações nas características de permeabilidade e solubilidade deste tecido, afetando, conseqüentemente, a adesão de materiais odontológicos à estrutura dentinária (DOGAN et al., 2001).

Saleh et al. (1999) analisaram o efeito do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e do EDTA na microdureza da dentina humana. Dezoito raízes de incisivos superiores foram instrumentadas e após foram seccionadas transversalmente nos terços cervical, médio e apical e os segmentos foram fixados em um bloco de resina acrílica onde a dentina permaneceu exposta. Os terços foram distribuídos em 2 grupos. No primeiro grupo, utilizou-se H₂O₂ 3% e NaOCl 5% no canal radicular, e no segundo, EDTA 17%. A microdureza Knoop foi medida antes e após a irrigação com as soluções nas distâncias de 500µm e 1000 µm da luz do canal radicular. Os autores verificaram que ambas as soluções reduziram a microdureza dentinária, no entanto, o EDTA foi mais severo em reduzir a microdureza (SALEH et al., 1999).

Ari et al. (2004) investigaram o efeito de diferentes soluções irrigadoras na microdureza. Noventa dentes foram seccionados longitudinalmente e cada hemi-seção foi fixada em um bloco de resina acrílica onde a dentina permaneceu exposta. As amostras foram divididas em 6 grupos (n=30), de acordo com a solução irrigadora: NaOCl 5,25%; NaOCl 2,25%; H₂O₂ 3%; EDTA 17%; gluconato de clorexidina 0,2% e água destilada (controle). Em todos os grupos o tempo de imersão foi de 15 minutos. Após a imersão, as amostras foram submetidas ao teste de microdureza Vickers. Todas as soluções utilizadas, exceto a clorexidina, causaram redução da microdureza da dentina do canal radicular (ARI et al., 2004).

Eldeniz et al. (2005) pesquisaram o efeito do EDTA e do ácido cítrico na microdureza. Quarenta e cinco dentes anteriores humanos foram seccionados longitudinalmente. Cada hemi-secção foi montada em um bloco de resina acrílica e recebeu um tipo de tratamento, de acordo com o grupo (n=15): G1- EDTA 17% por 150 segundos e em seguida NaOCl 5,25% por 150 segundos; G2- ácido cítrico 19% por 150 segundos e em seguida NaOCl 5,25% por 150 segundos; G3- água destilada (controle). As amostras tratadas com ácido cítrico apresentaram os menores valores de microdureza (ELDENIZ et al., 2005).

Qing et al. (2006) analisaram a limpeza e a microdureza da dentina radicular após o uso de algumas soluções irrigadoras associadas ou não ao uso do ultra som. Quarenta e três dentes unirradiculares foram instrumentados e distribuídos em 5 grupos conforme a solução preconizada: G1- NaOCl 5,25% e H₂O₂ 3%; G2- um ácido forte com água eletrolítica (SAEW) com ultra som por 1 minuto seguido de NaOCl 5,25%; G3- água destilada com uso de ultra som por 1 minuto; G4- SAEW com ultra som por 3 minutos seguido de NaOCl 5,25%; G5- EDTA 15% seguido por NaOCl 5,25%. Os espécimes foram seccionados longitudinalmente, sendo uma hemi-seção preparada para análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV) e outra para mensuração da microdureza Vickers. Os resultados mostraram que apenas os grupos 4 e 5 causaram a redução da microdureza. Quanto à remoção de “smear-layer”, o grupo do EDTA mostrou-se semelhante aos grupos 2 e 4 (QING et al., 2006).

De-Deus et al. (2006) estudaram o efeito do EDTA 17%, EDTAC 17% e ácido cítrico 10% na microdureza dentinária. Dezesesseis caninos superiores tiveram suas raízes cortadas transversalmente no terço médio, obtendo-se assim, discos de dentina de 4 mm. Os espécimes foram divididos em 3 grupos de acordo com a solução a ser avaliada. As amostras receberam 50µL da solução que permaneceu na dentina por 1, 3 e 5 minutos. As

medidas de microdureza Vickers foi realizada antes do tratamento e imediatamente após cada período de aplicação. Os autores observaram que o EDTA causou maior redução da microdureza quando comparado com os outros (DE-DEUS et al., 2006).

Oliveira et al. (2007) avaliaram os efeitos das soluções irrigadoras endodônticas na microdureza de canais radiculares. Trinta pré-molares humanos foram instrumentados até a lima #50 e irrigados com soro fisiológico. Cada raiz foi seccionada transversalmente em segmentos cervicais, médios e apicais. Estes foram incluídos em resina acrílica, polidos e tratados com as seguintes soluções: (1) solução salina (grupo controle); (2) solução de clorexidina 2%; (3) NaOCl 1%. A microdureza Vickers foi realizada após o tratamento com as soluções. Concluiu-se que tanto a solução de clorexidina quanto a solução de hipoclorito de sódio reduziram significativamente a microdureza dos canais radiculares (OLIVEIRA et al., 2007).

Saghiri et al. (2009) estudaram a relação entre a erosão e a microdureza da dentina radicular utilizando diferentes irrigantes. Setenta e dois pré-molares humanos unirradiculares foram preparados com instrumentos ProTaper e irrigados com cloreto de sódio 0,9% (solução salina). Os espécimes foram divididos em 6 grupos (n=12): NaOCl 2,6% (5 min); EDTA a 17% (5min) e após NaOCl a 2,6% (5min); EDTA 17% e após NaOCl a 2,6% (1min); MTAD (5min); Clorexidina 2% (5min) e solução salina (controle). Os valores de microdureza Vickers foram mensurados antes e após o tratamento com as soluções no terço médio radicular com profundidades de 100 a 500µm da interface polpa-dentina. A avaliação da erosão dentinária foi realizada por MEV, sendo o método de scores utilizado para a interpretação das imagens obtidas. O grupo NaOCl /EDTA 5 min mostrou o maior efeito erosivo na dentina além disso obteve menor redução da microdureza a uma profundidade de 100 µm. O MTAD mostrou maior redução da microdureza dentinária e menor efeito erosivo. Os autores concluíram que a erosão não é o principal fator na redução da microdureza dentinária, e sim a quantidade de penetração do irrigante na dentina (SAGHIRI et al., 2009).

Ballal et al. (2010) estudaram o efeito do ácido maleico 7% e EDTA 17% sobre a microdureza dos terços cervical, médio e apical de incisivos superiores por meio da dureza Vickers. Foram realizadas a remoção da polpa de quarenta e cinco dentes e após este procedimento estes foram seccionados longitudinalmente e incluídos em blocos de resina acrílica. As amostras foram divididas em 3 grupos (n=30) de acordo com o protocolo de irrigação: G1- EDTA 17% por 1 minuto; G2- ácido maleico 7% por 1 minuto e G3- soro fisiológico 0,9% (controle). Os grupos 1a, 2a e 3a foram determinados

para as medidas de microdureza após o tratamento com as soluções. Os resultados mostram que não houve diferença significativa entre o EDTA e o ácido maleico quanto à redução da microdureza (BALLAL et al., 2010).

Cruz-Filho et al. (2011) avaliaram os efeitos de diferentes agentes quelantes na microdureza da camada mais superficial da dentina. Trinta e cinco dentes unirradiculares foram instrumentados com sistema rotatório e irrigados com hipoclorito de sódio 1%. Após o preparo químico-mecânico os espécimes foram seccionados longitudinalmente e incluídos em blocos de resina. Os grupos foram distribuídos conforme a irrigação final dos espécimes: EDTA 15%; ácido cítrico 10%; ácido maleico 5%; ácido acético 5%; vinagre de maçã; citrato de sódio 5% e no grupo controle não houve irrigação. Os autores utilizaram 50µL de cada solução por 5 minutos. A microdureza da dentina foi medida com edentação Knoop após o tratamento com as soluções. Os autores concluíram que todas as soluções quelantes, exceto o citrato de sódio, reduziram a microdureza da camada superficial da dentina. No entanto, o EDTA e o ácido cítrico tiveram maior influência neste aspecto (CRUZ-FILHO et al., 2011).

Patil et al. (2011) avaliaram a microdureza radicular após o tratamento com as seguintes soluções irrigadoras: hipoclorito de sódio 2,5% e 5%; peróxido de hidrogênio 3%; EDTA 17%; clorexidina 0,2% e água destilada (controle). Cento e dois incisivos inferiores foram seccionados longitudinalmente e incluídos em blocos de resina acrílica. Cada solução permaneceu no espécime por 15 minutos. Os valores de microdureza das amostras foram mensurados com penetrador Vickers sob uma carga de 300 g e 10 segundos de tempo de espera. Os resultados mostraram que todas as soluções, exceto a clorexidina 0,2%, reduziram a microdureza da dentina (PATIL et al., 2011).

Akçay et al. (2012) investigaram o efeito de diferentes concentrações de cetrimida com ou sem solução de EDTA com objetivo de avaliar a microdureza da dentina radicular humana *in vitro*. Vinte e cinco caninos foram seccionados longitudinalmente e incluídos em blocos de resina acrílica. Os grupos foram divididos e tratados com EDTA 5%, EDTA 5% + cetrimida 0,25%, EDTA 5% + cetrimida 0,50%, cetrimida 0,25%, cetrimida 0,50%. Os valores de microdureza foram obtidos antes e após o tratamento com as soluções. Os resultados mostraram que todas as soluções reduziram a microdureza da dentina. O EDTA com cetrimida 0,50% causou maior alteração na microdureza dentinária (AKÇAY et al., 2012).

Zaparolli et al. (2012) avaliaram o efeito de NaOCl 1% e do EDTA 17%, de forma isolada e alternada, sobre a microdureza dentinária na região de furca de molares

inferiores. Vinte molares inferiores foram distribuídos em 4 grupos (n=5) de acordo com a solução irrigante utilizada. As soluções empregadas foram: EDTA 17% (I), NaOCl 1% (II), NaOCl 1% e EDTA 17% (III) e água destilada (IV) como controle. Foram realizadas a remoção da polpa dos dentes e após, estes foram clivados longitudinalmente e incluídos em blocos de resina acrílica. As metades que melhor representou a furca dental foi lixada e polida para avaliação da microdureza Knoop após o tratamento com as soluções. Os resultados mostraram que todas as soluções, exceto o grupo controle, diminuíram a microdureza dentinária. O EDTA não apresentou diferença estatística significativa em relação ao NaOCl / EDTA ($p > 0,05$), mas foi diferente do NaOCl ($p < 0,01$). Os grupos do EDTA e NaOCl / EDTA mostraram a maior redução da microdureza. A solução de EDTA associada ou não ao NaOCl 1% reduz, significativamente, a microdureza dentinária da furca de molares inferiores (ZAPAROLLI et al., 2012).

Pimenta et al. (2012) estudaram os efeitos da solução de quitosana 0,2%, EDTA 15% e ácido cítrico 10% sobre a microdureza da dentina radicular. Foram realizadas a remoção da polpa de treze incisivos superiores e após, estes foram clivados transversalmente e incluídos em blocos de resina acrílica. O primeiro corte transversal da porção cervical foi desprezado e dividiu-se o segundo, em 4 quadrantes. Cada quarto foi destinado à confecção do corpo de prova obtendo 4 espécimes para cada raiz, um para cada solução (n=10) : EDTA a 15%, ácido cítrico a 10%, quitosana a 0,2% e água destilada (controle). Os espécimes receberam 50 μ L da solução por 5 minutos, sendo em seguida, lavados com água destilada. Os valores de microdureza foram obtidos através de um microdurometro Knoop com carga de 10 g durante 15 segundos após o tratamento com as soluções. Três incisivos centrais foram instrumentados e irrigados, ao final da biomecânica, com uma das soluções estudadas. Os espécimes foram levados para o MEV e posterior análise qualitativa. Os resultados mostraram que todas as soluções estudadas exceto a água destilada reduziram a microdureza da dentina radicular. As fotomicrografias mostraram que as 3 soluções removeram a “smear layer” do terço médio do canal radicular. Foi possível concluir que todas as soluções utilizadas neste estudo apresentaram efeito semelhante na microdureza dentinária (PIMENTA et al., 2012).

Ulusoy et al. (2013) estudaram os efeitos de diferentes irrigantes sobre a remoção de “smear layer”, erosão e microdureza da dentina radicular. Setenta e duas raízes foram divididas em seis grupos (n= 12), de acordo com os irrigantes finais utilizados: Grupo 1: EDTA 17% + NaOCl 2,5%, Grupo 2: ácido maleico (MA) 7% + NaOCl 2,5 %, Grupo 3: NaOCl 1,3% + mistura de tetraciclina, ácido e detergente (MTAD), Grupo 4: Smear

Clear + NaOCl 2,5%, Grupo 5: NaOCl 5%, Grupo 6: solução salina. Os dentes foram clivados longitudinalmente e incluídos em blocos de resina acrílica. Os valores de microdureza Vickers foram medidos antes e após o tratamento. Os espécimes foram subdivididos em 2 grupos de 42 raízes cada, o primeiro grupo foi preparado para microscopia eletrônica de varredura para avaliar a quantidade de "smear layer" e a erosão nos terços cervical, médio e apical. Os resultados mostraram que o ácido maleico apresentou maior redução na microdureza de dentina, seguido de EDTA e MTAD. As soluções de EDTA, ácido maleico, MTAD e Smear Clear foram capazes de remover com maior eficiência a camada de "smear layer" nos terços cervical e médio do canal radicular. No entanto, na região apical, o ácido maleico mostrou uma remoção mais eficiente da camada de "smear layer" quando comparado com os outros irrigantes (ULUSOY et al., 2013).

Aranda-Garcia et al. (2013) estudaram o efeito de protocolos de irrigação final (17% EDTA, MTAD Biopure, Smear Clear e QMiX) sobre a microdureza e erosão do canal radicular dentinário. Cinquenta raízes foram seccionadas transversalmente na junção cimento-esmalte e cada raiz foi seccionado horizontalmente. As amostras foram divididas em cinco grupos (n=10) de acordo com o protocolo de irrigação final: G1: água destilada (grupo controle); G2: EDTA 17%; G3: MTAD Biopure; G4: Smear Clear; e G5: QMiX. A microdureza Knoop foi medida antes e após o protocolo de irrigação com uma carga de 25 g durante 10s. Na sequência, as amostras foram submetidas à análise de MEV para verificar a erosão dentinária pelo método de Torabinejad *et al.* (2003): 1: Ausência de erosão, todos os túbulos normais na aparência e tamanho; 2: Erosão moderada, a dentina peri-tubular com erosão; e 3: Erosão severa, a dentina intertubular destruída, e os túbulos dentinários ligados uns com os outros. Os autores observaram que em todos os protocolos de irrigação final a microdureza dentinária reduziu. Não houve diferença significativa entre os grupos 2, 3, 4 e 5, mas estes grupos apresentaram maior redução da microdureza dentinária quando comparado com o G1. No G2, ocorreu maior incidência de erosão dos túbulos dentinários quando comparado com os outros irrigantes (ARANDA-GARCIA et al., 2013).

Aslands et al. (2014) estudaram os efeitos das soluções irrigantes sobre a microdureza dentinária na presença ou ausência de modificadores da superfície. Foram realizadas a remoção da coroa de quarenta e oito dentes e após este procedimento estes foram seccionados longitudinalmente e incluídos em blocos de resina acrílica. As amostras foram divididas em 6 grupos (n=8): EDTA 17%, REDTA (EDTA 17%

contendo 0,84g de cetrimide), NaOCl 6%, NaOCl 6% com modificadores de superfície (Chlor- XTRA), CHX 2%. Os valores de microdureza Vickers foram obtidos antes e após a irrigação com as soluções. Os resultados mostraram que o EDTA e o NaOCl reduziram significativamente a microdureza da dentina na presença e ausência do modificador de superfície. Além disso, o EDTA na presença ou ausência do surfactante causa uma maior redução da microdureza da dentina quando comparado com NaOCl e CHX. No entanto a adição de surfactantes nas soluções irrigantes não alterou o seu efeito sobre a microdureza da dentina (ASLANTAS et al., 2014).

Tuncer et al. (2015) avaliaram os efeitos do Qmix, EDTA+CHX, EDTA+NaOCl e ácido maleico sobre a microdureza da dentina do canal radicular. Quarenta dentes foram selecionados e instrumentados utilizando o sistema rotatório ProTaper. Estes foram clivados longitudinalmente e fixados em um bloco de resina acrílica onde a dentina permaneceu exposta. Os valores de microdureza Vickers foram obtidos após o tratamento com as soluções. As endentações foram realizadas no canal principal com profundidade de 100µm da interface dentina-polpa no terço cervical, médio e apical. Os resultados mostraram que o ácido maleico causou maior redução da microdureza dentinária quando comparado com o Qmix, EDTA+CHX e EDTA+NaOCl. O Qmix e EDTA+CHX causaram a mesma redução da microdureza da dentina nas três regiões estudadas (cervical, media e apical). O NaOCl usado como solução irritante final após o EDTA+NaOCl promoveram uma maior incidência de erosão nos túbulos dentinários. Os estudos descritos mostraram que as soluções de NaOCl, EDTA, ácido cítrico, ácido maleico, MTA, NaOCl/EDTA causam redução na microdureza da dentina (TUNCER et al., 2015).

Baldasso et al. (2017) avaliaram os efeitos de protocolos de irrigação final sobre a microdureza dentinária e erosão do canal radicular. Sessenta incisivos inferiores foram instrumentados e divididos aleatoriamente em seis grupos (n=10) de acordo com o irrigante utilizado: QMiX, EDTA 17%, ácido cítrico 10%, ácido peracético 1% , NaOCl 2,5% e água destilada. Após os protocolos de irrigação, todos os espécimes foram lavados com 10 mL de água destilada para remover qualquer resíduo das soluções químicas. Os valores de microdureza Knoop foram obtidos antes e após os protocolos finais de irrigação. Três indentações foram feitas à 100 µm e 500 µm de distância da luz do canal radicular. Na sequência, as amostras foram submetidas à análise de MEV para verificar a erosão dentinária pelo método de Torabinejad et al. (2003). Os autores observaram que à 100 µm de distância da luz do canal radicular em todos os protocolos de irrigação final a microdureza dentinária reduziu, ($p < 0,05$), enquanto que à uma

distância de 500 µm, esse efeito foi detectado apenas nos grupos EDTA e QMiX ($p < 0,05$). O ácido cítrico à 10% foi o irrigante que causou erosão mais extensa nos túbulos dentinários, seguido do ácido peracético 1% e EDTA. O QMiX não causou erosão da dentina (BALDASSO et al., 2017).

1.8. Citotoxicidade das soluções irrigadoras

Os testes de citotoxicidade *in vitro* fazem parte dos testes que avaliam a biocompatibilidade dos materiais odontológicos. Estes testes também são importantes para avaliação dos aspectos da segurança e eficácia quanto à exposição aos tecidos (KOULAOUZIDOU et al., 1998).

Muitas pesquisas *in vitro* de citotoxicidade para avaliação dos riscos biológicos de materiais odontológicos são desenvolvidas utilizando culturas celulares provenientes de linhagens obtidas comercialmente, ou a partir de culturas primárias estabelecidas em laboratórios individualmente. Estes estudos são de grande importância para a avaliação prévia do comportamento dos materiais frente aos tecidos (HUANG et al., 2002; SCHMALZ, 2002; SAIDON et al., 2003; BOUILLAGUET et al., 2004).

A determinação dos efeitos citotóxicos de materiais em cultura de células requer técnicas rápidas, reprodutíveis e capazes de monitorar estes efeitos em função do tempo. Alguns métodos para analisar os efeitos citotóxicos são estáticos ou indiretos, ou seja, eles são designados para avaliar estes efeitos associados somente a processos celulares, como a integridade da membrana celular. Devido às limitações desses métodos, novas metodologias foram criadas a fim de permitir a execução de pesquisas capazes de determinarem rapidamente o número de células viáveis em culturas celulares (ESTRELA et al., 2000).

Entretanto, as metodologias dos estudos para análise da citotoxicidade de materiais dentários variam tanto no tipo de teste como no tipo de cultura celular empregada, muitas vezes dificultando a comparação destes materiais quanto as suas propriedades biológicas (SCHMALZ, 2002).

Os testes de citotoxicidade mais comuns e normatizados pela ISO 10993-5 são: Contato Direto, Difusão em Ágar e Contato Indireto ou Eluição. Os testes para verificação da viabilidade celular são: MTT/XTT, Vermelho Neutro e Cristal Violeta.

Durante o tratamento endodôntico as soluções irrigadoras podem entrar em contato com os tecidos pulpares e periapicais podendo causar complicações. Diante disso,

é importante estudar os efeitos citotóxicos que esses irrigantes podem causar, uma vez, que um irrigante ideal não pode ser tóxico para organismo.

Sceiza et al. (2001) avaliaram a citotoxicidade do ácido cítrico 10% e EDTA-T em cultura de fibroblastos, utilizando azul de Tripán. As soluções foram diluídas até 1%, 0,1% e 0,01% e aplicadas a culturas de células NIH 3T3. As células cultivadas em DMEM foram utilizadas como grupo controle. Após 0, 6, 12 e 24 h (ensaio de curto prazo, viabilidade) e 1, 3, 5, e 7 dias (ensaio de longa duração, sobrevivência), as células foram contadas usando um hemocítômetro. Em testes de curto prazo, a viabilidade celular variou de 85% a 99% para todos os grupos experimentais, sem diferenças estatísticas quando comparado com as culturas de controle, exceto para o grupo tratado com 1% de EDTA-T, o que causou uma diminuição progressiva da viabilidade celular. Em testes de longa duração, todas as culturas aumentaram em número desde o dia 1 até ao final do período experimental, mostrando nenhuma inibição da proliferação celular, exceto para as culturas tratadas com 1% de EDTA-T, o que preveniu completamente o crescimento celular. Todas as diluições de ácido cítrico 10% foram mais biocompatíveis do que o EDTA-T (SCEIZA et al., 2001).

Chang et al. (2001) estudaram *in vitro* os efeitos do hipoclorito de sódio e clorexidina sobre culturas de células humanas do ligamento periodontal (PDL). Os efeitos das soluções de irrigação nas células do ligamento periodontal humano foram avaliados por ensaio de citotoxicidade com iodeto de propídio fluorescente, ensaio de síntese de proteínas e a atividade mitocondrial. Os resultados mostram que ambas as soluções (NaOCl e CHX) foram tóxicas para células PDL humanas dependendo da concentração e do tempo de contato. Além disso, CHX inibiu a síntese de proteínas em células humanas de PDL. Embora o NaOCl tenha apresentado citotoxicidade celular este não mostrou nenhuma inibição de proteína nas células de PDL. Além disso, as soluções de NaOCl e CHX exibiram um efeito inibitório sobre a atividade mitocondrial em células humanas PDL. Este estudo sugere que as soluções de irrigação podem causar efeitos prejudiciais para os tecidos vitais (CHANG et al., 2001).

Heling et al. (2001) avaliaram e compararam *in vitro* os efeitos antimicrobianos e citotóxicos do hipoclorito de sódio (NaOCl) e di-cloro-isocianurato de sódio (NaDCC). A concentração inibitória mínima e a concentração bactericida mínima de NaOCl e NaDCC foram testados para *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus salivarius*, *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus mutans*. O efeito citotóxico foi avaliado através da cultura de fibroblastos de tecido humano. A taxa de sobrevivência foi avaliada por um método de

determinação de proteínas. Os resultados mostraram que a concentração inibitória mínima e valores de concentração bactericida mínima de NaOCl e NaDCC para as bactérias testadas foram semelhantes. O NaDCC em concentrações superiores a 0,02%, e NaOCl em concentrações superiores a 0,01%, foram letais para os fibroblastos. Concluiu-se que ambos os agentes foram eficazes contra as bactérias, e a sua citotoxicidade para os fibroblastos em cultura de tecidos foi semelhante (HELING et al., 2001).

Serper et al. (2001) comparou a citotoxicidade de soluções de NaOCl, EDTA e potencial oxidativo da água (OPW). Através de ensaio colorimétrico MTT. Os autores observaram que o EDTA exerceu efeitos mais tóxicos em todas as concentrações testadas, quando comparado com OPW e NaOCl. Concluiu-se que (a) OPW foi menos tóxico quando comparado com os outros irrigantes (SERPER et al., 2001).

Onçag et al. (2003) compararam *in vivo* as propriedades de toxicidade do hipoclorito de sódio 5,25% (NaOCl), gluconato de clorexidina 2% e gluconato de clorexidina 0,2% + cetrímide 0,2% (Cetrexidin). Os efeitos tóxicos das soluções irrigantes foram avaliados através da injeção no tecido subcutâneo de ratos. As reações inflamatórias que ocorreram 2h, 48h e 2 semanas após as injeções foram analisadas. Os autores observaram que ao fim de 2 semanas, a toxicidade da solução de hipoclorito de sódio foi maior do que a dos outros irrigantes. Concluiu-se que o Cetrexidin e gluconato de clorexidina 2% tiveram menor efeito tóxico quando comparado com o hipoclorito de sódio 5,25% (ONCAG et al., 2003).

Barnhart et al. (2005) avaliaram a citotoxicidade de seis irrigantes em fibroblastos gengivais cultivados utilizando o ensaio CyQUANT. Fibroblastos gengivais humanos foram cultivadas em Dulbecco Modified Eagle Medium (DMEM) contendo soro fetal bovino a 10% a 37°C e 5% de CO₂. Na confluência, as células foram divididas, aplicadas em placas de 96 poços e incubadas durante 24 h. As seguintes soluções irrigantes foram testadas a várias concentrações: O hipoclorito de sódio (NaOCl); iodeto de potássio iodetado (IKI); Matagal Betadine (BS); hidróxido de cálcio; dióxido de cloro (SCD) e DMEM (controlo positivo). Os grupos experimentais foram comparados pela diferença logarítmica entre as concentrações clínicas e DL50 de um irrigante. Os resultados mostraram que IKI e hidróxido de cálcio foram significativamente menos tóxicos do que SCD, NaOCl, e BS (BARNHART et al., 2005).

Nogueira et al. (2008) avaliaram *in vitro* a citotoxicidade do trióxido mineral (MTA) associado a diferentes concentrações de clorexidina (CHX) sobre cultura de fibroblastos do ligamento periodontal de camundongos (MPDL). Para isto, corpos de

prova foram preenchidos com cada uma das associações: MTA + água destilada (G1), MTA + CHX 0,06% (G2), MTA + CHX 0,12% (G3), MTA + CHX 0,2% (G4) e MTA + CHX 1% (G5). Os corpos de prova foram imersos individualmente em recipientes contendo 1,1 mL de meio de cultura DMEM, onde permaneceram por 24 h ou por 7 dias para a obtenção dos extratos. As células foram semeadas em placas de 24 poços e incubadas por 48 h a 37°C com 5% de CO₂. Decorrido este período, o meio de cultura de cada compartimento foi substituído por 1 mL dos extratos dos materiais e as células foram incubadas por 24 h. O meio de cultura (DMEM) foi usado como grupo controle negativo (G6). A citotoxicidade foi avaliada pela análise do metabolismo celular (teste do MTT) e pela análise da morfologia celular em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os resultados mostraram que o metabolismo celular foi estatisticamente menor para todos os grupos experimentais em ambos períodos quando comparados com o grupo controle. O menor efeito citotóxico foi observado para G1, seguido pelos grupos G2 e G3, que não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si. Os grupos G4 e G5 apresentaram os maiores efeitos citotóxicos, sendo G5 mais citotóxico do que G4 tanto para o extrato de 24 h quanto de 7 dias. A análise em MEV demonstrou que o aumento da concentração de clorexidina incorporada ao MTA resultou em redução do número de células aderidas ao substrato e marcante alteração na morfologia celular. Concluiu-se que, independentemente do tempo de obtenção dos extratos, quanto maior a concentração de CHX incorporada ao MTA, mais tóxico o cimento para os fibroblastos e o extrato de 7 dias foi mais citotóxico que o extrato de 24 h (NOGUEIRA, 2008).

Fidalgo et al. (2009) avaliaram o efeito citotóxico de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio sobre a cultura de células de osteoblastos humanos. Culturas confluentes de osteoblastos humanos foram submetidas a incubações com hipoclorito de sódio nas concentrações 0,5; 1, 2,5 e 5,25% durante 30 segundos. O grupo controle foi representado por células incubadas em fosfato de potássio. A avaliação da viabilidade celular foi realizada através do teste de exclusão com azul de Trypan, em triplicata. Durante o período de incubação, as imagens foram registradas através de um microscópio óptico invertido para avaliação da morfologia celular. Os autores mostraram que no grupo controle o percentual de células viáveis era de 99,7%, morfologicamente normais, enquanto nos grupos experimentais não foi possível observar células viáveis. A cinética de citotoxicidade seguiu tendência dependente da concentração. Concluiu-se que o

hipoclorito de sódio nas concentrações 0,5; 1, 2,5 e 5,25% incubados durante 30 segundos em cultura de osteoblastos humanos é citotóxico (FIDALGO, 2009).

Marins et al. (2012) investigaram a genotoxicidade e a citotoxicidade *in vitro* de irrigantes endodônticos. Células de fibroblasto de ratos foram expostas a soluções de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), hipoclorito de sódio (NaOCl), MTAD e ácido cítrico em concentrações crescentes durante 3h a 37 C°. O grupo de controle negativo foi tratado com solução tampão de fosfato - PBS durante 3 h à 37 C°, e o grupo de controle positivo foi tratado com metilmetanesulfonato, 1 µM durante 3 h à 37C°. A citotoxicidade foi avaliada pelo teste de azul de tripan e a genotoxicidade foi avaliada pelo teste do cometa. Conclui-se que as soluções de NaOCl, EDTA e ácido cítrico são agentes citotóxicos, sendo que o NaOCl apresentou um efeito de toxicidade maior. Nenhum dos produtos químicos avaliados induziu alterações genéticas *in vitro*. Apesar da ausência de citotoxicidade, o MTAD mostrou efeitos genotóxicos significativos em todas as concentrações testadas (MARINS et al., 2012).

Bukiet et al. (2012) avaliaram a citotoxicidade de TAED + P (tetracetiletilenodiamina em associação com perborato de sódio) e NaOCl em fibroblastos L929. Os dois desinfetantes TAED + P e NaOCl foram testados em várias concentrações. A incorporação do corante vermelho neutro e as 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5 difenil tetrazólio brometo foram usadas para avaliar a viabilidade celular. Os valores de 50% de dose inibitória para ambos os desinfetantes foram calculados e analisados estatisticamente. O efeito de ambos os desinfetantes sobre a viabilidade de fibroblastos também foi determinado na presença de várias concentrações de soro fetal de vitelo (FCS). Os resultados mostraram que ambos os desinfetantes induziram uma perda relacionada com a dose de viabilidade celular, sendo que o TAED + P foi menos tóxico do que NaOCl em todas as condições. Conclui-se que TAED + P pode ser utilizado como um possível irrigante endodôntico. No entanto, mais estudos são necessários para analisar a sua atividade antibacteriana contra patógenos endodônticos e seu poder de dissolução de matéria orgânica (BUKIET et al., 2012).

Kerbl et al. (2012) avaliaram as propriedades físicas e histológicas do fêmur de cães expostos ao NaOCl por um período de 30 minutos. Quatro fêmures de cães foram dissecados e congelados. Doze secções de 40 mm de comprimento foram obtidas e cortadas em secções de 20 mm. Superfícies adjacentes foram selecionados aleatoriamente para injeção de NaOCl ou soro fisiológico. Os cortes foram avaliados visualmente. A integridade estrutural do osso esponjoso foi medida por ensaio de micro- endentador, e a

análise estatística da penetração da agulha foi conduzido. A avaliação histológica de espécimes também foi realizada. Os autores observaram que o NaOCl causou mudanças notáveis na estrutura esponjosa, deixando crateras de desmineralização aparente. Houve diferença significativa na média de profundidade de penetração da agulha e desmineralização entre os tratamentos, o NaOCl mostrou maior profundidade média quando comparado com a solução salina. O grupo de NaOCl mostrou degradação dos colágenos. Concluiu-se que o NaOCl compromete a integridade do osso esponjoso (KERBL et al., 2012).

Alkahtani et al. (2014) avaliaram a citotoxicidade de soluções irrigantes do canal radicular QMix e hipoclorito de sódio (NaOCl) sobre as células-tronco mesenquimais humanas da medula óssea imortalizadas (hTERT-MSC-C1). A viabilidade celular foi avaliada por MTT e ensaios de AlamarBlue (AB). A morfologia das células foi estudada após duas horas de exposição ao QMix e NaOCl. As análises de Microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizadas após períodos de incubação de 2 e 4 horas. As células vivas e mortas foram avaliadas através do método de coloração LIVE/DEAD. Os autores observaram que o QMix apresentou maior viabilidade celular quando comparado com o NaOCl. A análise em MEV demonstrou alterações morfológicas mínimas associados com as células que foram expostas à solução QMix. O número de células vivas após a exposição à solução QMix foi semelhante ao do controle não tratado. Nenhuma estrutura celular pode ser observada após a exposição à solução de NaOCl, indicando morte celular. Concluiu-se que ambas as soluções de irrigação foram tóxicas para as células. A solução de QMix induziu uma morte lenta das células quando comparado com o NaOCl. O QMIX pode ser considerado um irrigante mais seguro para o tratamento de canais radiculares do que o NaOCl (ALKAHTANI et al., 2014).

Bajrami et al. (2014) estudaram os efeitos citotóxicos do NaOCl 3%, CHX 2% e MTAD sobre fibroblastos do ligamento periodontal de ratos. Estas células foram expostas aos irrigantes por 1, 24, 48 e 72 h e sua viabilidade foi então avaliada. A citotoxicidade foi determinada através do ensaio de WST-1, utilizando um leitor de micro-ELISA. Os autores observaram que os 3 irrigantes foram citotóxicos, sendo que a solução de CHX foi menos citotóxica do que as de NaOCl e MTAD. Na concentração de 0,1 ml / l, as soluções de NaOCl e MTAD foram moderadamente citotóxicas, enquanto a de CHX foi altamente prejudicial para a viabilidade celular nos tempos estudados. Os autores concluíram que as soluções devem ser utilizadas em concentrações mais baixas para aumentar a viabilidade celular e proteger os tecidos contra os danos pela toxicidade,

independentemente da sua maior eficácia em concentrações mais elevadas (BAJRAMI et al., 2014).

A maioria dos estudos apresentados mostraram que as soluções de hipoclorito de sódio e EDTA apresentaram um efeito citotóxico para as células podendo causar danos aos tecidos. A utilização de soluções irrigadoras com concentrações menores causam menor dano aos tecidos.

1.9. Métodos utilizados para remoção ou ultrapassagem de fragmentos de lima

Alguns fatores como o conhecimento, a prática clínica e a experiência do profissional em selecionar a melhor técnica para remoção de um instrumento fraturado dos canais radiculares são importantes para se obter o sucesso no tratamento (RUDDLE, 2004).

Para a remoção de instrumentos metálicos, uma lima Kerr de calibre fino como por exemplo (#06, #08 e #10) pode ser utilizada para ultrapassar o fragmento e criar espaço para sua remoção. A lima é posicionada entre o fragmento e as paredes de dentina e, com movimentos de cateterismo, cria-se espaço entre os dois para ultrapassar o fragmento. Os movimentos de vaivém devem ser utilizados com o objetivo de alargar o espaço criado. Obtendo êxito nesta etapa, tenta-se fazer o mesmo em outros pontos ao redor do fragmento fazendo com que o mesmo fique praticamente solto no canal, podendo ser removido com a própria ação mecânica do instrumento ou durante a irrigação. O uso de PUI (Irrigação ultrassônica passiva) posicionados no espaço criado pelas limas manuais é adequado neste caso, uma vez que a vibração ultrassônica atua deslocando o fragmento das paredes dentinárias (ZUOLO, 2009).

Alguns autores preconizam o uso de uma ou mais limas tipo Hedstroen (H) no espaço criado entre a parede do canal e o fragmento, uma vez que o ângulo das arestas de corte favorece a remoção do fragmento metálico. É importante salientar que há riscos de fratura destas limas tipo H neste procedimento. Krell (1984) propôs a inserção de uma lima hedstroem entre o cone de prata e a parede do canal e a vibração ultrassônica desta lima para fazer com que o cone se desprendesse do canal (KRELL et al., 1984). De acordo com Ruddle (2004), a utilização da ponta ultrassônica entre o fragmento e a parede do canal é suficiente para que ele seja removido do canal. Porém, este protocolo está contra indicado em casos de limas separadas e alojadas no terço apical dos canais, abaixo da curvatura, onde o acesso visual e manipulativo não puder ser obtido. O autor

propôs que um microscópio clínico seja utilizado durante procedimento para que haja a visualização do fragmento.(RUDDLE, 2004).

O método Masserann (Masserann, 1971) consiste em liberar o fragmento através do desgaste da dentina periférica, com a utilização de brocas de trepanação de diferentes diâmetros, que devem corresponder aos diâmetros dos fragmentos a serem removidos. Segundo o autor, o próprio fragmento serve como guia para a broca, evitando que se forme um novo trajeto. Em alguns casos, a resistência à remoção do fragmento é reduzida com o aumento da profundidade de penetração (MASSERANN, 1971). Caso seja necessário, um segundo instrumento deve ser utilizado para extrair o fragmento. A vibração ultrassônica da broca de trepanação deste sistema foi proposta por Okiji em 2003 para casos de dificuldade de remoção do fragmento (OKIJI, 2003).

O Endo Extractor/ Meisinger Meitrac (Hager & Meisinger GmbH, Germany) foi proposto por Feldman et al. (1974). Este sistema utiliza brocas de trepanação associadas ao uso de um extrator denominado Extractor (Medidenta, Woodside, NY, EUA). De acordo com os autores, uma broca de Peeso deve ser usada para obtenção do acesso ao fragmento. Logo após, uma broca de trepanação deve ser usada para expor alguns milímetros do fragmento com o auxílio da trans-iluminação deste com fibra óptica. O instrumento Extractor deve ser então inserido no canal de forma que sua ponta deslize ao redor da porção livre do fragmento. Ao apertar o êmbolo rosqueado do instrumento, o fragmento fica preso e pode ser removido com um movimento no sentido anti-horário do cabo do extrator (FELDMAN et al., 1974).

Os métodos Masseram e Endo Extractor podem ser usados na remoção de cones de prata e pinos metálicos presentes no interior de um canal radicular. No entanto estes métodos promovem um acentuado desgaste na dentina e os instrumentos componentes destes sistemas são rígidos tendo emprego limitado, sendo recomendados apenas em canais radiculares retos ou segmentos retos de canais curvos e raízes dentárias volumosas (LOPES& SIQUEIRA, 2015).

A utilização do alicate de Perry e de uma pinça hemostática foi proposta por Weisman (1983) para a remoção de cones de prata do interior de canais radiculares. De acordo com o autor, o alicate de Perry tem uma ponta serrilhada muito fina e pode alcançar facilmente a extremidade do cone. O alicate deve ser travado por uma pinça hemostática, que permite a aplicação da força necessária para soltá-lo das paredes do canal. Apesar de o autor ter descrito esta técnica para a remoção de cones de prata do

interior de canais radiculares, fragmentos de instrumentos também podem ser removidos assim, desde que tenham a extremidade exposta (WEISMAN, 1983).

A técnica do laço foi proposta por Roig-Greene (1983). De acordo com o autor, este método deve utilizar um sistema composto por uma agulha descartável e um segmento de fio de aço onde as extremidades do fio devem ser passadas por dentro da agulha, formando um laço em sua ponta livre. Segundo o autor, este método não deve ser usado para remover fragmentos que estejam firmemente aderidos às paredes do canal, mas aqueles que já tenham sido previamente soltos por outro método (ROIG-GREENE, 1983). Suter (1998) e Terauchi et al. (2006), afirmaram que a técnica do laço descrita por Roig-Greene (1983) requer a exposição de uma grande porção do instrumento, sendo que neste estágio o fragmento pode ser removido por qualquer outro sistema (SUTER, 1998; TERAUCHI et al., 2006).

Eleazer & O' Connor (1999) propuseram um método que consiste no uso de uma agulha hipodérmica com o bisel cortado para remover dentina adjacente ao fragmento do instrumento. Segundo os autores, esta remoção é conservadora uma vez que o próprio fragmento guia a agulha (ELEAZER et al., 1999).

Para remoção de fragmentos que estejam soltos no interior do canal radicular, Rahimi & Parashos (2009) propuseram que um cone de guta-percha deveria ser imerso em clorofórmio até que a plasticidade do material fosse alcançada. O cone plastificado deve ser introduzido no canal de forma que o contato entre este e o fragmento seja obtido. Após a recuperação da rigidez do cone, este pode ser removido do canal, de forma que o fragmento seja removido juntamente (RAHIMI et al., 2009).

Outro método sugerido por Spriggs (1990) e Hulsmann (1993) foi a utilização do cianoacrilato, um material adesivo que se liga a extremidade oca do Endo Extrator. Neste método, o canal é ampliado pelo endodontista até o fragmento metálico expondo uma extensão que permita a sua apreensão pelo extrator. Posteriormente é aplicado o cianoacrilato na extremidade oca do extrator, levando-o de encontro ao fragmento metálico. Após o endurecimento, o extrator é removido por tração (SPRIGGS et al., 1990; HULSMANN, 1993). COUTINHO FILHO (1998) demonstrou a recuperação de um instrumento fraturado em molar através do uso de cianoacrilato. No entanto, a utilização de cianoacrilato só deve ser feita quando o fragmento estiver solto das paredes do canal para que não haja contaminação nas paredes (COUTINHO FILHO, 1998). Lopes & Siqueira (2004) sugerem a utilização deste método com duas gotas de Super

Bonder aplicada em sua extremidade oca. No entanto este método não é muito indicado em canais curvos devido à falta de flexibilidade (LOPES & SIQUEIRA, 2004).

Outro método proposto por Ruddle (1997) foi à utilização da vibração ultrassônica, como o uso de pontas ultrassônicas para desgaste de dentina. Este método utiliza brocas Gates-Glidden modificadas para criar uma plataforma na porção coronária do fragmento, a fim de que a ponta ultrassônica entre em contato com o fragmento (RUDDLE, 1997). De acordo com Ruddle (2004), a inserção da ponta ultrassônica entre o fragmento e a parede do canal é suficiente para que o fragmento seja ejetado do canal. A utilização do microscópio clínico foi proposta pelo autor para uma melhor visualização do fragmento (RUDDLE, 2004). Um estudo semelhante foi descrito por Mello JR & Kherlaklan (2010) no qual foi observada a remoção de um instrumento fraturado com uso de microscópio e ultrassom (MELLO JR, 2010).

Vários dispositivos para remoção de fragmentos metálicos têm sido lançados no mercado. A maioria dos sistemas foi desenhada para engajar mecanicamente a obturação intracanal, através de microtubos posicionados entre o instrumento e a parede dentinária. Ruddle (2004) ressalta que a maioria destes sistemas provoca excessivo desgaste de dentina com risco de degraus, perfurações ou enfraquecimento radicular, além dos dispositivos muitas vezes não serem efetivos (RUDDLE, 2004). A utilização de microtubos deve ser a última alternativa para remoção de fragmentos metálicos. Alguns exemplos desses dispositivos são: Masserann Kit (Micromega, França); Endo Extractor/ Meisinger Meitrac (Hager & Meisinger GmbH, Germany); iRS: Instrument Removal System (Dentsply, Tulsa Dental, USA); S.I.R: Separated Instrument Retrieval System (Vista Dental Products - USA); Cancellier Extractor Kit (SybronEndo, USA) (RUDDLE, 2004).

Segundo Hulsmann (1993) várias técnicas foram relatadas com o uso de agentes químicos como ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido clorídrico, cristais de iodo, entre outros, com o objetivo de corroer obturações metálicas intencionalmente. No entanto, estes agentes químicos podem ser prejudiciais aos tecidos periapicais quando extravasados pelo forame, além de serem agressivos ao próprio tecido dentinário podendo aumentar o risco de perfuração radicular (FORS et al., 1983; NAGAI et al., 1986; HULSMANN, 1993).

1.10. Métodos de ultrapassagem pelo fragmento de lima que utilizam eletrodos

A utilização de eletrodos vem sendo feita durante o tratamento endodôntico, através do uso de aparelhos chamados de localizadores apicais, que tem como objetivo realizar a medida do comprimento do canal radicular. Baseado nos princípios de McDonald (1992), os aparelhos são classificados em: corrente contínua ou corrente alternada. Os primeiros utilizam uma corrente contínua na medição da resistência elétrica e as leituras são feitas a partir de um eletrodo positivo e outro negativo, fechando o circuito. Já os segundos, utilizam a corrente alternada na medição de resistência elétrica, fazendo leituras a partir de alta frequência (MCDONALD, 1992).

Outro tipo de aparelho que funciona por meio de eletrodos é o Pulp Tester, que realiza um teste de sensibilidade pulpar através da aplicação de uma corrente de baixa voltagem e intensidade crescente na superfície externa da coroa dentária. Neste teste, o eletrodo é umedecido com creme dental para aumentar a condutividade elétrica, e é encostado na superfície da coroa do elemento dentário a ser testado, evitando-se encostar o eletrodo na gengiva e em restaurações metálicas. O paciente deve segurar com a mão ou dedo a peça de mão do Pulp Tester, sendo instruído a remover o dedo do eletrodo caso sinta “formigamento ou queimação” no dente (COHEN, 2007; LOPES & SIQUEIRA, 2015). Este teste tem como objetivo estimular as fibras sensoriais pulpares, obtendo respostas positivas ou negativas. As respostas positivas serão consideradas normais dentro de uma escala fornecida pelo fabricante. Já em casos de anormalidade das condições pulpares, as respostas serão obtidas através de estímulos abaixo do esperado, indicando necrose pulpar.

Ormiga et al. (2010) propuseram um novo método de remoção de fragmentos metálicos através da sua dissolução ativa, visando a desobstrução do trajeto original do canal sem danos às estruturas dentárias. O método consiste de dois eletrodos imersos na solução, um atuando como anodo e outro como catodo. O contato entre a lima fraturada e o eletrodo usado como anodo é necessário para que o processo de dissolução ocorra. Uma diferença de potencial eletroquímica adequada é aplicada entre os dois eletrodos, o que resulta na migração dos elétrons do anodo para o catodo e, por conseguinte, a liberação de íons metálicos na solução. Este processo corresponde à dissolução progressiva do fragmento no interior do canal radicular. Esta nova técnica poderá aumentar a eficácia do tratamento endodôntico, uma vez que contribuirá para a diminuição de casos de perfurações e perdas desnecessárias do dente devido à redução da resistência mecânica da raiz pelo desgaste dentinário promovido pelos instrumentos endodônticos. Além disso,

facilitará o preparo químico-mecânico dos canais radiculares prevenindo infecções, favorecendo assim um melhor prognóstico para o retratamento endodôntico (ORMIGA et al., 2010).

Barbosa et al. (2010) observou que a liga NiTi sofreu dissolução ativa desde o potencial de corrosão até 9,0 V_{ECS}. A amperimetria referente à aplicação de diferentes valores de potencial ao eletrodo plano de NiTi neste meio mostrou que quanto maior o potencial aplicado, maior é a perda de massa do NiTi, considerando que a corrente gerada esteja diretamente relacionada à dissolução do metal. De acordo com a autora, o pH = 5,0 possibilita a dissolução ativa liga NiTi, sendo o pH mais próximo do fisiológico. A redução do pH para 4,0 não teve influência significativa sobre o tempo de dissolução (BARBOSA, 2010). Além disso, valores mais baixos de pH tendem a provocar descalcificação da estrutura dentinária (MARSHALL et al., 1997).

Nos ensaios de perda de massa realizados, houve uma significativa dissolução das limas em tempo inferior a 30 minutos, utilizando um potencial de 8,0 V_{ECS} (Figura 2) (ORMIGA et al., 2010). A polarização de 0,7 V_{ECS} dos fragmentos de lima no interior de canais simulados durante seis horas resultou na dissolução parcial do fragmento, possibilitando a recuperação do trajeto original do canal. Tal dissolução pode ser observada nas imagens radiográficas do fragmento antes e após o ensaio de polarização. A recuperação do trajeto original do canal pode ser confirmada através ultrapassagem do fragmento com uma lima manual # 10 após o ensaio, sendo este período de tempo considerado insatisfatório clinicamente pelos autores (Figura 3) (BARBOSA, 2010).

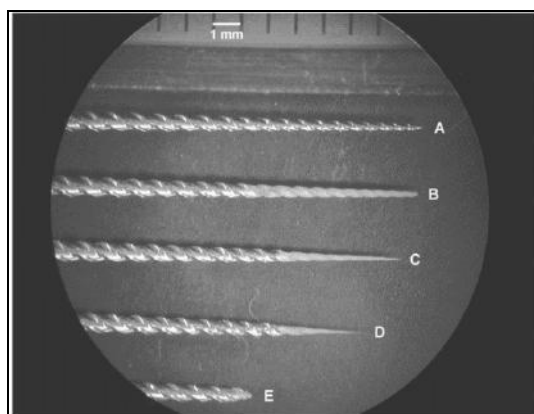


Figura 2. Análise ao microscópio óptico de limas de NiTi K3. (A) Lima nova; (B) Lima submetida a um potencial constante por 8 minutos; (C) Lima submetida a um potencial constante por 17 minutos; (D) Lima submetida a um potencial constante por 25 minutos; (E) Lima submetida a um potencial constante por 53 minutos. (Figura adaptada de Ormiga et al., 2010).

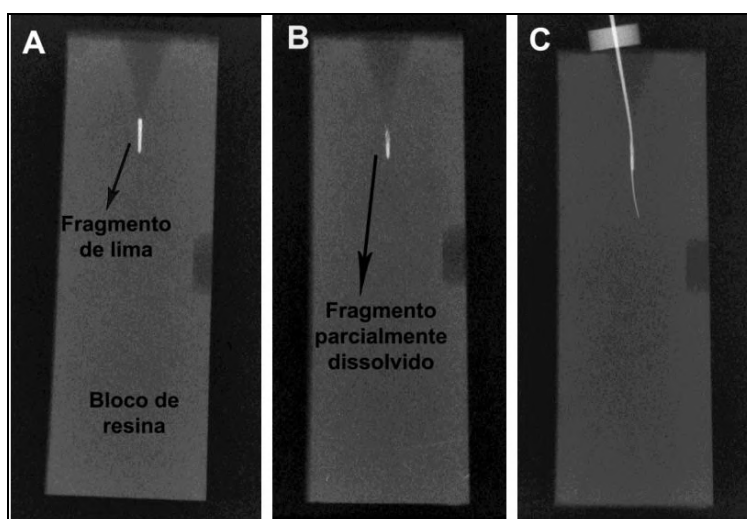


Figura 3. Imagens radiográficas de um fragmento de lima submetido à polarização no interior de um canal simulado. (A) Imagem obtida antes do ensaio; (B) imagem obtida após o ensaio; (C) imagem de uma lima manual #10 ultrapassando o fragmento após o ensaio. (Figura adaptada de Barbosa, 2010).

Ormiga et al. (2011) testaram a capacidade de dissolver fragmentos de limas K3 de níquel-titânio embutidas em resina. Foram utilizadas limas endodônticas K3 de NiTi seccionadas de acordo com o método proposto por Siciliano (2008) (SICILIANO, 2008). As limas inicialmente foram embutidas em resina (Figura 4A). Em cilindros de PVC

foram feitos orifícios internos, e esses foram preenchidos com resina epóxi. Os tubos de PVC com resina foram levados ao dispositivo de forma que as limas a serem ensaiadas fossem embutidas na resina numa posição perfeitamente vertical. As bases dos cilindros de PVC foram posicionadas no dispositivo por 24 horas, até que a resina completasse sua cura. Os cilindros foram então removidos do dispositivo (Figura 4B) e as marcações correspondendo a D3, D6 e D14 foram feitas em sua superfície. Após este processo, as limas foram seccionadas nos níveis pré-determinados (Figura 4C). Células de três eletrodos foram montadas. Os eletrodos foram imersos na solução de [NaF 5 g/L + NaCl 1 g/L], pH = 5,0 e ligados ao potenciostato. Um fragmento de lima embutido em PVC também foi imerso na solução de teste, de forma que o centro da superfície de sua secção transversal fizesse contato com a ponta do fio de platina usado como eletrodo de trabalho. O potencial de 0,7 V_(ECS) foi aplicado durante 60 minutos, enquanto o potenciostato registrava a corrente gerada. Três fragmentos de cada grupo foram testados. O teste ANOVA foi utilizado para comparar a carga elétrica total entre os fragmentos dos 3 grupos. Os resultados mostraram que os valores totais de carga elétrica gerados durante os testes evidenciam diferença estatística entre os 3 grupos de fragmentos (análise de variância, P <0,05). Quanto maior for o diâmetro da seção transversal da superfície exposta, maior será o valor da carga elétrica. O processo de dissolução depende da área da superfície exposta à solução e da profundidade da interface entre o metal e a solução (ORMIGA et al., 2011).

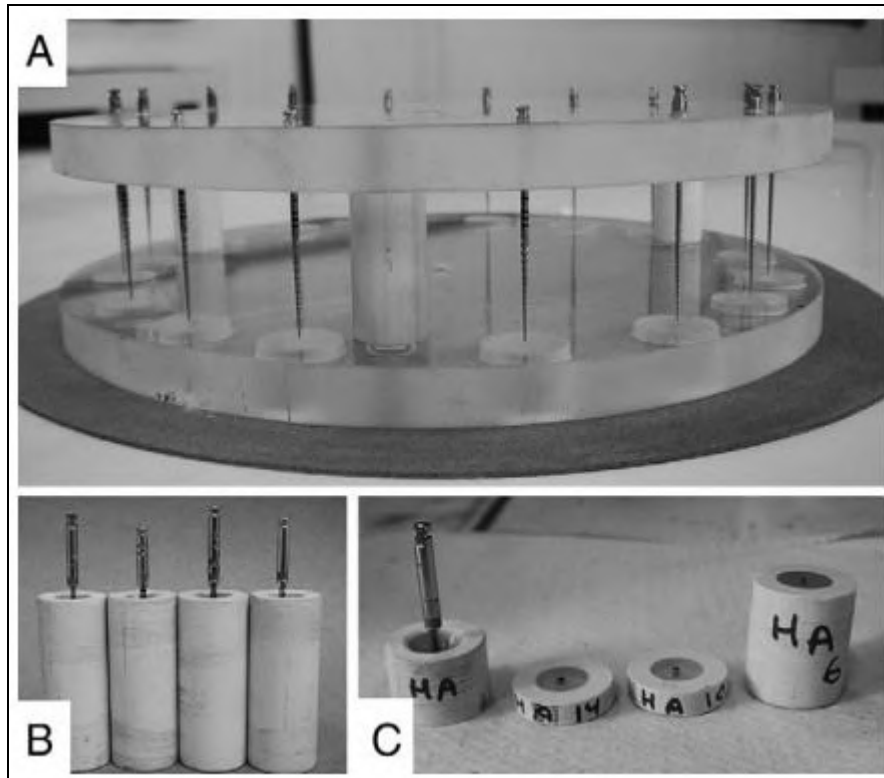


Figura 4. (A) Dispositivo desenvolvido na confecção dos fragmentos embutidos; (B) cilindros de PVC com as limas embutidas; (C) lima embutida seccionada (SICILIANO, 2008)(Figura adaptada de Ormiga et al. 2011).

Aboud et al. (2014) e Ormiga et al. (2015) observaram a dissolução parcial das limas de NiTi K3, ProTaper e Mtwo no interior de canais simulados após a aplicação do potencial de $+0,6 V_{ECS}$, em solução de $[NaF 12g/L + NaCl 1g/L]$, $pH=5,0$ por 60 minutos, o que permitiu a recuperação do trajeto original do canal com a utilização de uma lima tipo K #10 (ABOUD et al., 2014; ORMIGA et al., 2015). Amaral et al. (2015) demonstraram também a dissolução parcial de limas de liga de aço inoxidável no interior de canais simulados após a aplicação de um potencial de $+0,5V_{ECS}$ em solução $[NaF 5g/L + NaCl 175,5g/L]$, $pH=5,0$ por 60 minutos, permitindo a recuperação do trajeto original do canal (Figura 5) (AMARAL et al., 2015).

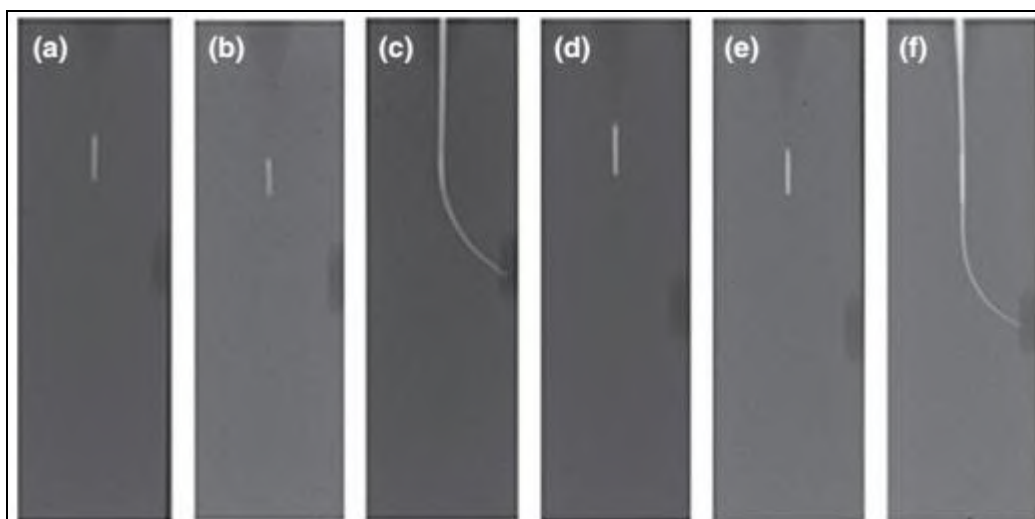


Figura 5. Imagens radiográficas de um fragmento de lima submetido à polarização no interior de um canal simulado. (a-c) fragmento de lima de aço inoxidável #20; (d-f) fragmento de lima de aço inoxidável #30. (a, d) imagens obtidas antes do ensaio; (b, e) imagens obtidas após o ensaio; (c, f) imagens de uma lima manual #10 ultrapassando o fragmento após o ensaio. (Figura adaptada de Amaral et al. 2015).

Kowalczuck et al. (2017) estudaram o processo de dissolução eletroquímica de limas fraturadas em incisivos inferiores utilizando soluções de fluoreto e cloreto de sódio em diferentes concentrações. Foram testadas duas soluções (solução 1: NaF 12 g/ L + NaCl 1 g/ L, pH = 5,0 e solução 2: NaF 12 g/ L 1 + NaCl 180 g/ L, pH = 5,0) utilizando 2 testes: polarização de limas ProTaper Universal F1 (PTU F1) e polarização de fragmentos fraturados de limas de PTU F1 no interior de canais radiculares de incisivos inferiores. As raízes dos dentes foram inseridas em um molde de silicone retangular para estes ensaios. Após os ensaios os dentes foram clivados longitudinalmente para avaliação por microscopia eletrônica de varredura dos fragmentos de lima. A corrente elétrica e as variações no comprimento dos fragmentos PTU F1 foram medidas. Os resultados mostraram que a solução 2 apresentou efeitos mais corrosivos em ambos os testes. No primeiro teste, as limas PTU F1 imersas na solução 2 tiveram maior corrente elétrica ($p < 0,001$) e um tempo de dissolução total de aproximadamente 540 s. No segundo teste, observou-se uma redução maior nos comprimentos finais dos fragmentos quando utilizada a solução 2 ($p = 0,011$). As imagens de microscopia eletrônica de varredura mostraram a dissolução parcial de limas imersas em ambas soluções Radiograficamente não foi observado a dissolução total dos fragmentos em ambas as soluções (KOWALCZUCK et al., 2017).

CAPÍTULO II

1. Desenvolvimento do método de dissolução eletroquímica de fragmentos em canais radiculares

1.1. Introdução e Objetivo

Estudos anteriores mostraram uma eficácia na ultrapassagem de limas fraturadas em canais radiculares simulados utilizando método de dissolução eletroquímica (ORMIGA et al., 2010; ABOUD et al., 2014; AMARAL et al., 2015; ORMIGA et al., 2015). Além disso, um estudo similar demonstrou através da microscopia eletrônica de varredura e radiografia a redução no comprimento de fragmentos fraturados após a clivagem longitudinal das raízes de incisivos inferiores utilizando o processo de dissolução eletroquímica (KOWALCZUCK et al., 2017).

Logo o uso de soluções de fluoreto de sódio (NaF) e cloreto de sódio (NaCl) durante o processo de dissolução eletroquímica foi descrito como promissor para a ultrapassagem de limas fraturadas dentro dos canais radiculares simulados (ORMIGA et al., 2010; ABOUD et al., 2014; AMARAL et al., 2015; ORMIGA et al., 2015) e na redução do comprimento dos fragmentos de limas em canais radiculares de incisivos inferiores (KOWALCZUCK et al., 2017). No entanto, estes estudos estão distantes de uma situação clínica, uma vez que, os canais radiculares simulados e canais radiculares dos incisivos inferiores foram completamente imersos na solução teste. A solução utilizada deveria ter sido restrita a câmara pulpar. Logo, mais estudos em dentes são necessários adaptando a metodologia utilizada no sentido de viabilizar o seu uso clínico.

O objetivo deste capítulo foi avaliar a viabilidade da dissolução eletroquímica de fragmentos de lima em canais radiculares de molares superiores.

2. Materiais e Métodos

Esta parte do estudo foi realizada em 2 etapas. Primeira etapa: Ensaios preliminares em canais radiculares simulados. Segunda etapa: Ensaios em dentes humanos extraídos.

2.1. Técnica eletroquímica de dissolução de fragmentos de limas de níquel-titânio em canais radiculares simulados

Foram realizadas polarizações de fragmentos de lima de níquel-titânio ProTaper F1 no interior de canais simulados no terço médio em blocos de resina (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Suíça). Um fragmento de 3,0 mm da ponta de 10 limas de níquel-titânio ProTaper F1 foram gerados por fadiga sob flexão e, em seguida, posicionada no interior do canal simulado com auxílio de uma pinça com pressão suficiente para que houvesse o travamento no terço médio do canal radicular simulado (Figura 6A). Uma lima manual #08 (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Suíça) foi utilizada para a verificação da obstrução do canal pelo fragmento de lima.

Para simular o processo de dissolução eletroquímica em dentes extraídos, foi feito para cada bloco com canal simulado um reservatório de acrílico (diâmetro interno (\emptyset) = 9,12 mm e altura (H) = 7,9 mm, volume = 520 mm³) para acomodar os eletrodos e criar um reservatório para a solução de [NaF 12 g/ L + NaCl 1 g /L] (Figuras 6B e 6C). Em seguida o reservatório foi preenchido com 600 microlitros de solução de [NaF 12 g/ L + NaCl 1 g /L]. Após este procedimento, a ponta de um fio de platina de 0,2 mm de diâmetro foi colocada em contato com o fragmento de lima. Outro fio de platina de 0,5mm de diâmetro foi imerso no reservatório de acrílico (Figura 7 e 8). Um potenciostato digital AUTOLAB PGSTAT 302N (Metrohm) foi usado neste experimento para a aplicação da diferença de potencial entre os dois fios de platina e registro da corrente durante os ensaios. Sempre que a corrente diminuía durante o processo de polarização, a renovação da solução de [NaF 12g/L + NaCl 1g/L] era realizada através da irrigação com 600 microlitros desta solução.

A técnica eletroquímica de amperometria foi utilizada no experimento, aplicando-se um potencial de +1,0 V durante 120 minutos, registrando a corrente gerada e a carga aplicada. Após os ensaios, uma lima manual #08 (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Suíça) foi utilizada para a verificação da possibilidade de ultrapassagem do fragmento. A análise radiográfica dos canais simulados foi realizada antes e após os ensaios para a verificação

da dissolução do fragmento fraturado. As radiografias foram digitalizadas através de um scanner (HP ScanJet 3670).

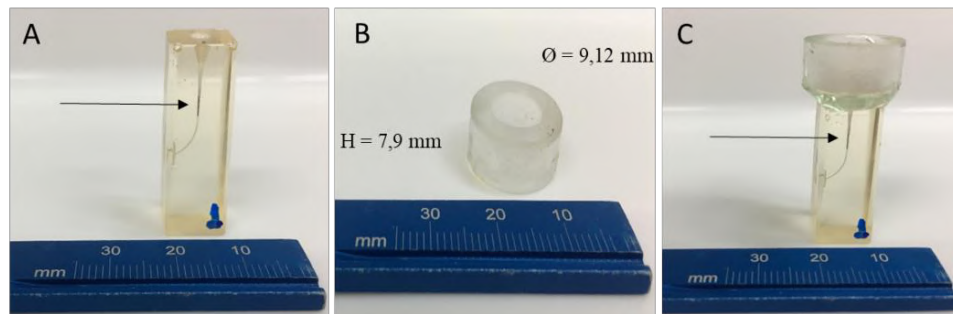


Figura 6. Preparo do bloco de resina para os ensaios de dissolução eletroquímica. (A) Bloco de resina simulando um canal radicular com lima de níquel-titânio Protaper F1 fraturada no terço médio (seta). (B) Reservatório de acrílico simulando a câmara pulpar de um dente. (C) Bloco de resina com canal simulado com lima fraturada no terço médio e reservatório de acrílico acoplado simulando a câmara pulpar do dente.

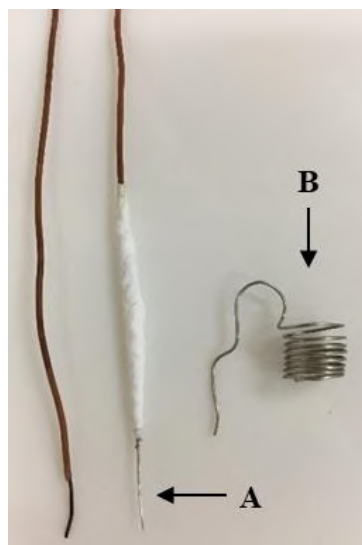


Figura 7. Eletrodos de platina utilizados no processo de dissolução eletroquímica de limas. (A) Fio de platina de 0,2 mm usado como eletrodo de trabalho. (B) Fio de platina de 0,5 mm usado como contra-eletrodo e eletrodo de referência.

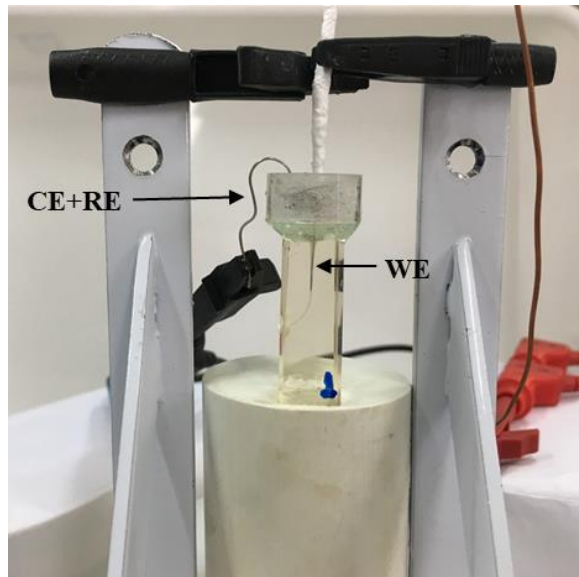


Figura 8. Esquema de uma célula com 2 eletrodos utilizada nos ensaios de dissolução eletroquímica de limas fraturadas em canais simulados. WE= eletrodo de trabalho (fio de platina de 0,2 mm + fragmento de lima) e CE (contra eletrodo) + RE (eletrodo de referência) conectados.

2.2. Técnica eletroquímica de dissolução de fragmentos de limas de níquel-titânio em canais radiculares

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF/UFRJ) (número do protocolo 1.187.133). 10 molares superiores foram extraídos por motivos terapêuticos e acondicionados em frascos individuais contendo formol 10% até o momento dos testes, quando foram lavados com água corrente por 24 horas para eliminar qualquer resquício desta solução. Os dentes foram radiografados e acessados com brocas diamantadas esféricas (1014) e o tecido pulpar foi removido dos canais radiculares. A patência dos canais disto-vestibulares foi então verificada com uma lima manual #08 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça). O comprimento dos dentes variou entre 20 e 22 mm.

Dez limas de níquel-titânio (NiTi) Protaper F1 foram incisadas com uma broca diamantada até a metade de sua espessura a uma distância de 2,5mm da ponta do instrumento. Cada lima foi então acionada em rotação com velocidade de 300 rpm e posicionadas no interior do canal disto-vestibular do dente até que o instrumento fosse fraturado e o fragmento no terço médio permanecesse preso no interior do canal radicular. Desta forma, cada um dos molares superiores obteve um fragmento de lima Protaper F1 em sua raiz disto-vestibular (Figura 9A e 9B). Os dentes foram então

radiografados para verificar a posição dos fragmentos (Figura 9C). Uma lima manual #08 foi utilizada para verificar a obstrução dos canais pelos fragmentos de lima. A análise por microtomografia computadorizada (micro-CT) foi realizada para verificar os seguintes parâmetros: volume do fragmento, área livre entre o fragmento e o canal e comprimento do fragmento utilizando o Software de análise (CT Analyser v1.15.4) e um programa Data Viewer® v1.5.6.2. Para a realização da micro-CT, as amostras foram posicionadas em um porta amostra utilizado em conjunto com massa para fixar e posicionar os dentes. As amostras foram então colocadas em um scanner de micro-CT (SkyScan 1173; Bruker microCT, Kontich, Belgium) e a varredura foi realizada utilizando um ângulo de rotação de 0,5°, energia de 70 kV, corrente de 114 mA, tamanho de pixel de 20µm e um filtro de alumínio.

Para a polarização dos fragmentos de lima no interior dos canais radiculares, o dente foi fixado em um suporte e foi feito para cada dente um reservatório de acrílico (diâmetro interno (\emptyset) = 9,12 mm e altura (H) = 7,9 mm, volume = 520 mm³) semelhante ao utilizado nos ensaios em blocos com canal simulado (Figuras 9D e 9E). Em seguida a cavidade foi preenchida com 600 microlitros de solução teste. Após este procedimento, a ponta de um fio de platina de 0,2 mm de diâmetro foi colocada em contato com o fragmento de lima. Outro fio de platina de 0,5mm de diâmetro foi imerso no reservatório de acrílico (Figuras 7 e 10). Um potenciostato digital AUTOLAB PGSTAT 302N (Metrohm) foi usado neste experimento para a aplicação da diferença de potencial entre os dois fios de platina e registro da corrente durante os ensaios. Sempre que a corrente diminuía durante o processo de polarização, a renovação da solução de [NaF 12g/L + NaCl 1g/L], era realizada através da irrigação com 600 microlitros desta solução.

A técnica eletroquímica de amperometria foi utilizada no experimento, aplicando-se um potencial de +1,0 V durante 120 minutos, registrando a corrente gerada e a carga aplicada. Após os ensaios, os dentes foram novamente analisados por micro-CT com os mesmos parâmetros da análise inicial. Os dentes foram radiografados para confirmar a dissolução do fragmento e verificar a desobstrução do canal. Uma lima manual foi utilizada para a verificação da possibilidade de ultrapassagem do fragmento.

As imagens obtidas pelos ensaios de micro-CT foram reconstruídas através de um software NRecon v. 1.6.10.4 (Bruker micro-CT, Kontich, Belgium) onde os slices são reunidos para produzir a imagem 3D reconstruída, o pixel é transformado matematicamente em voxel, capaz de representar a profundidade da imagem radiológica. Utilizando o Software de análise (CT Analyser v1.15.4) foi possível realizar o processo

de segmentação separando os poros do material e identificar o material de metal no interior do canal radicular, assim como as delimitações de sua estrutura. Nesta etapa foi realizado o cálculo morfométrico tal como o volume; tendo como região de interesse o canal e o fragmento de lima antes e após o tratamento eletroquímico.

Outro software auxiliou nas medidas lineares, o Data Viewer v1.5.6.2 que permite visualizar as amostras em diferentes vistas 2D nos cortes, longitudinal, coronal e sagital e foi empregado para medidas precisas do comprimento do fragmento e da área livre entre o fragmento e o canal antes e após o processo eletroquímico.

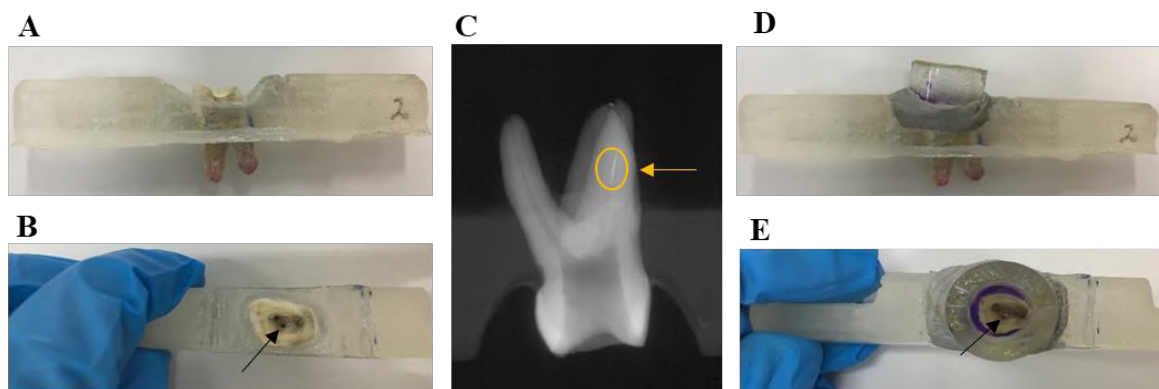


Figura 9. Preparo do dente para os ensaios de dissolução eletroquímica. (A - B) Dente com lima de níquel-titânio fraturada no canal disto- vestibular no terço médio. (C) Radiografia inicial com lima fraturada no terço médio. (D - E) Dente com lima fraturada no canal disto-vestibular no terço médio e reservatório de acrílico acoplado.

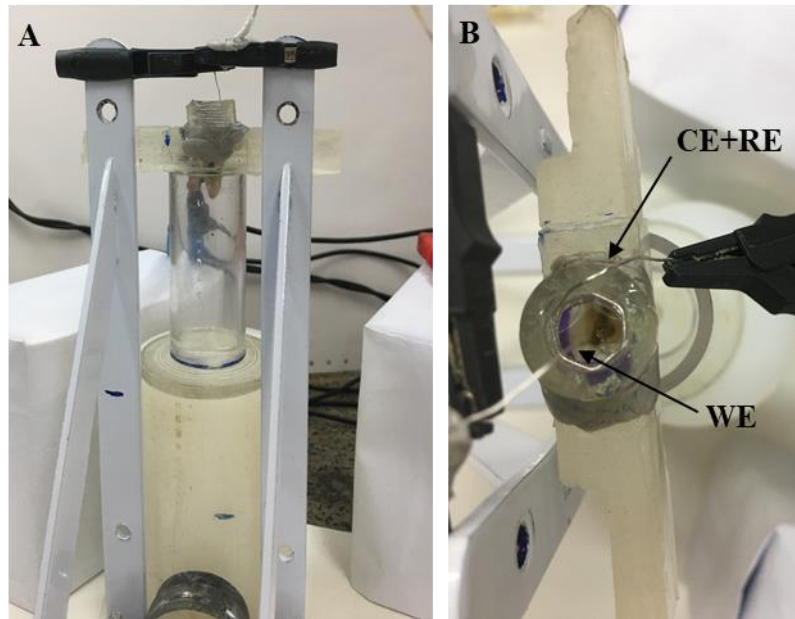


Figura 10. Esquema de uma célula com 2 eletrodos utilizada nos ensaios de dissolução eletroquímica de limas fraturadas em canais radiculares. WE= eletrodo de trabalho (fio de platina de 0,2 mm + fragmento de lima) e CE (contra eletrodo)+RE (eletrodo de referência) conectados. (A) vista frontal; (B) vista superior.

2.3 Análise estatística

Os dados obtidos com o potenciostato digital foram analisados estatisticamente pelo programa Origin Pro 9. Para análise dos parâmetros referentes as análises de micro-CT antes e após a dissolução eletroquímica, os dados apresentaram uma distribuição normal, de acordo com o teste D'Agostino e Pearson, desta forma o teste-t pareado foi aplicado. Os valores de $p < 0,05$ (intervalo de confiança de 95%) foram considerados significativos. Todos os cálculos foram realizados usando um software estatístico.(GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, EUA).

3. Resultados

3.1. Técnica eletroquímica de dissolução de fragmentos de lima ProTaper F1 em canais simulados

Os resultados mostraram que foi possível a ultrapassagem do fragmento de lima ProTaper F1 no terço médio em todos os blocos com canal simulado utilizando uma lima # 08.

A Figura 11 mostra o registro de corrente gerada durante a aplicação de +1V por meio de uma ponta de platina de 0,2 mm de diâmetro a um fragmento de lima de níquel-titânio no terço médio de um canal simulado em bloco de resina durante 120 minutos.

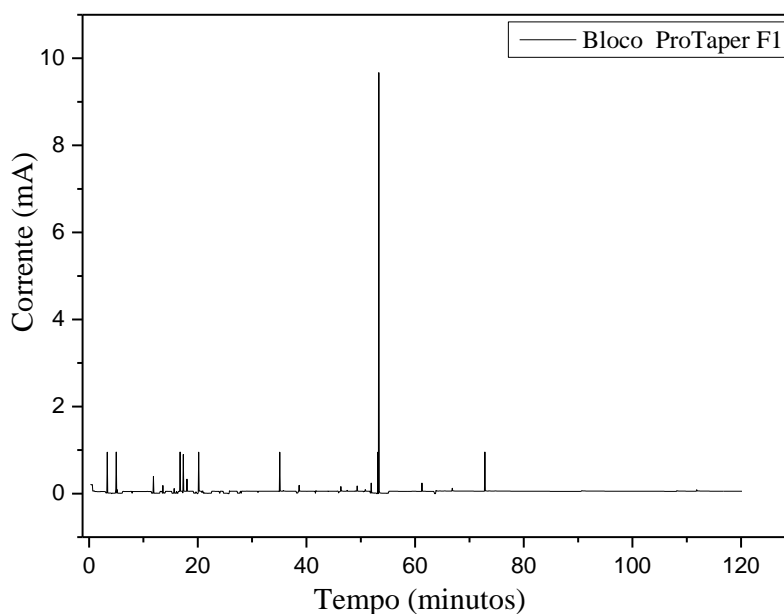


Figura 11. Corrente registrada durante aplicação de +1V a um fragmento de lima de níquel-titânio (ProTaper F1) no terço médio de um canal simulado.

O valor inicial de corrente foi de aproximadamente 230 μ A. Os picos gerados durante o processo de dissolução eletroquímica indicam o aumento de corrente, e estes foram gerados quando a ponta de platina era ajustada no interior do canal simulado e quando a solução era renovada sempre que a corrente diminuía durante o processo de dissolução eletroquímica. A média dos valores totais de carga elétrica gerada foi igual a 0,36 C. A corrente assumiu valor final de 20 μ A no ensaio realizado.

As imagens radiográficas não mostraram a perda de comprimento do fragmento. Pode ser observado a ultrapassagem com lima # 08 do fragmento fraturado (Figura 12).

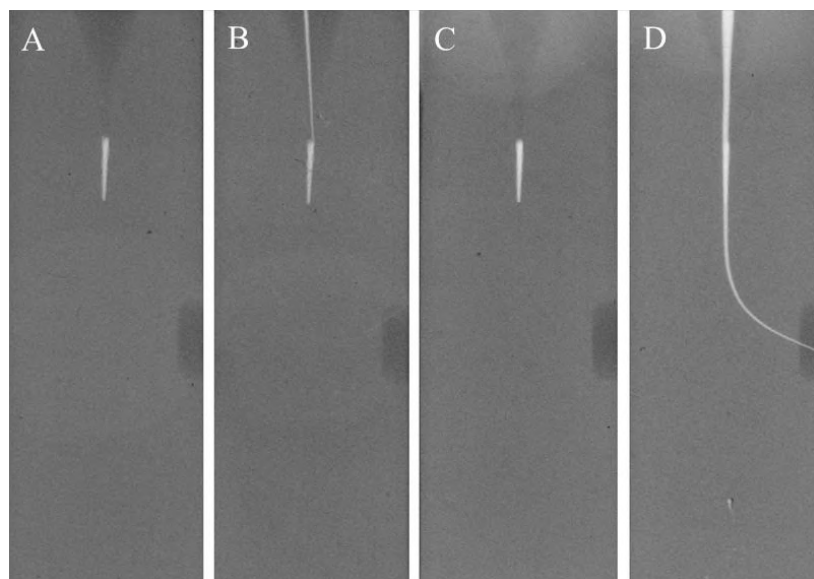


Figura 12. Imagens radiográficas do bloco de resina com fragmento de lima ProTaper F1 no terço médio do canal simulado. (A) e (B) Antes da polarização anódica com a não ultrapassagem pelo fragmento com a lima K #08. (C) Após a polarização anódica. (D) Após a polarização anódica, ultrapassagem de uma lima K #08 pelo fragmento.

3.2. Técnica eletroquímica de dissolução de fragmentos de lima ProTaper F1 em dente extraído

Os resultados mostraram que foi possível a ultrapassagem pelo fragmento de lima ProTaper F1 no terço médio em todos os dentes extraídos utilizando uma lima # 08.

A figura 13 mostra o registro de corrente gerada durante a aplicação de +1V por meio de uma ponta de platina de 0,2 mm de diâmetro a um fragmento de lima de níquel-titânio no terço médio de um dente extraído durante 120 minutos.

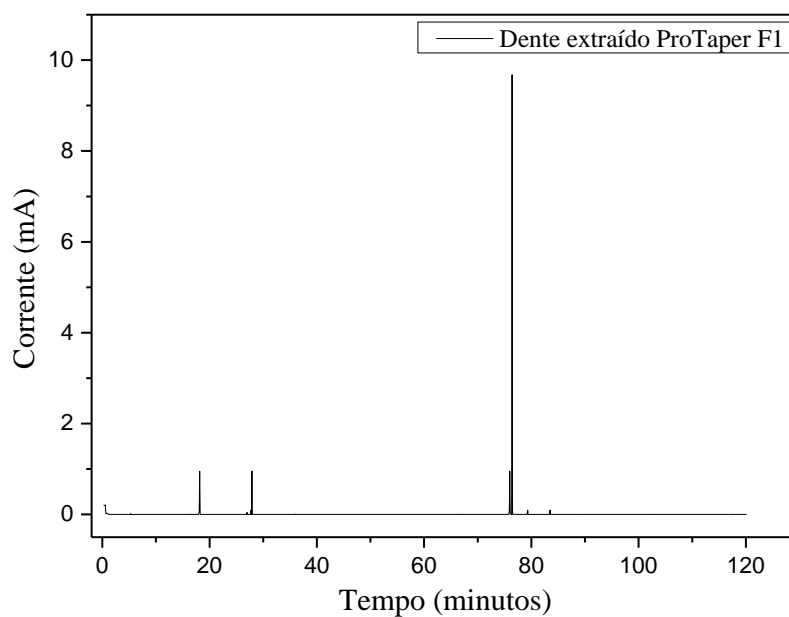


Figura 13. Corrente registrada durante a aplicação de +1V a um fragmento de lima de níquel-titânio (ProTaper F1) no terço médio de um canal radicular.

O valor inicial de corrente foi de aproximadamente $200 \mu\text{A}$. Os picos gerados durante o processo de dissolução eletroquímica indicam o aumento de corrente, e estes foram gerados quando a ponta de platina era ajustada no interior do canal radicular e quando a solução era renovada sempre que a corrente diminuía durante o processo de dissolução eletroquímica. A média dos valores totais de carga elétrica gerada foi igual a $0,26 \text{ C}$. A corrente assumiu valor final de $40 \mu\text{A}$ no ensaio realizado.

As imagens radiográficas não mostraram a perda de comprimento do fragmento, pode ser observado a ultrapassagem com lima # 08 do fragmento fraturado (Figura 14).

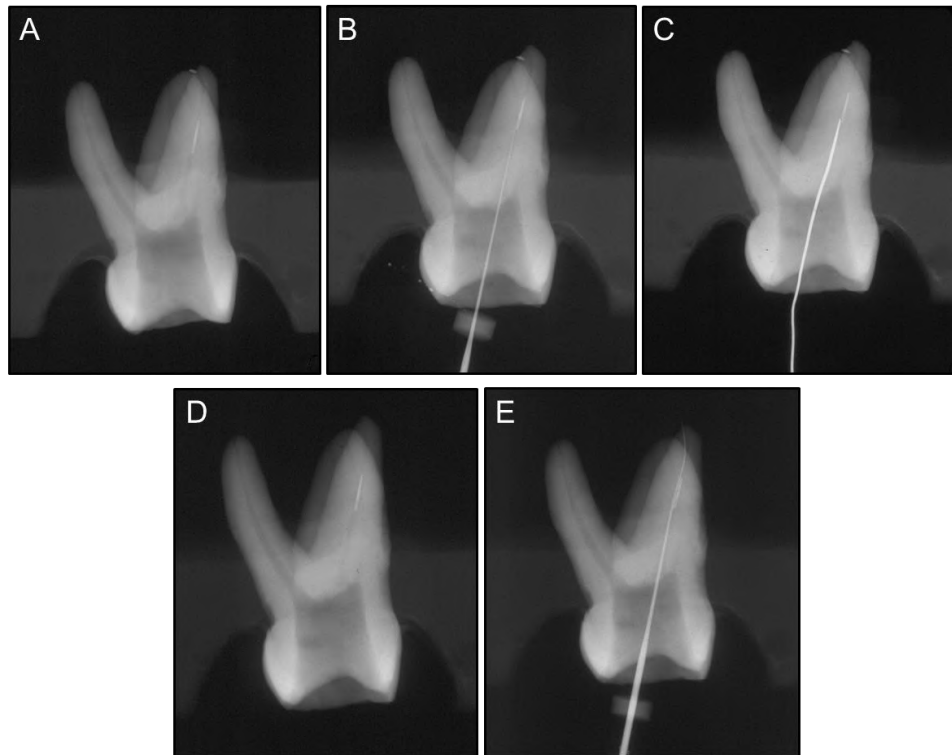


Figura 14. Imagens radiográficas de um molar superior com fragmento de lima ProTaper F1 no terço médio do canal disto-vestibular. (A) e (B) Antes da polarização anódica com a não ultrapassagem pelo fragmento com a lima K #08. (C) Ponta de platina mostrando o contato com o fragmento no interior do canal radicular. (D) Após a polarização anódica. (E) Após a polarização anódica, ultrapassagem de uma lima K #08 pelo fragmento.

Nas análises por micro-CT, foi possível observar que a dissolução eletroquímica causou uma redução significativa no volume dos fragmentos no interior dos canais radiculares (Figura 15) ($p < 0,01$; Tabela 1). No entanto, o processo de dissolução eletroquímica não alterou a área livre entre o fragmento e o canal e o comprimento do fragmento (Tabela 1).

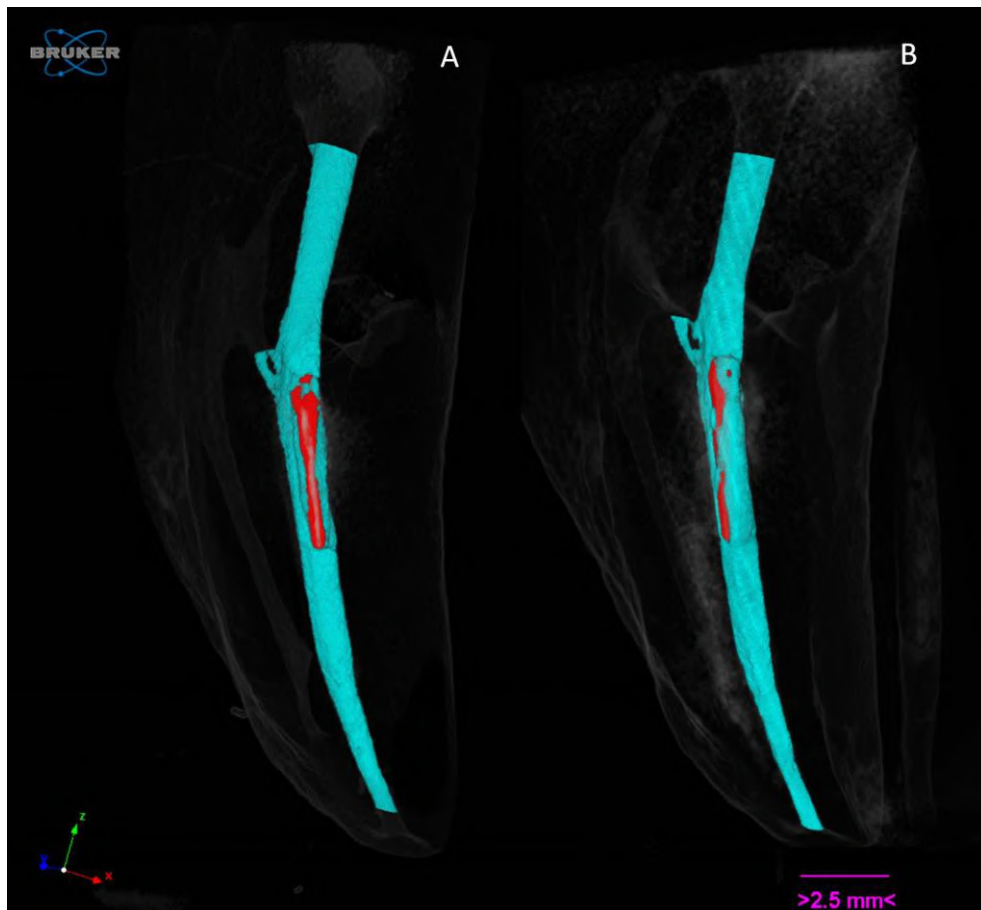


Figura 15. Imagem representativa da microtomografia computadorizada de um molar superior com fragmento de lima ProTaper F1 no terço médio do canal radicular antes (A) e após (B) o processo de dissolução eletroquímica.

Tabela 1. Análise através de micro-CT de fragmentos de limas antes e após o processo de dissolução eletroquímica utilizando a solução de [NaF 12g/L + NaCl 1g/L].

Parâmetros	Pré-tratamento	Pós-tratamento
Volume (mm³)	8,10 ± 1,07	6,26± 0,73 **
Espaço livre entre metal e canal (mm)	5,35 ± 0,95	6,96 ± 1,14
Comprimento (mm)	2,43 ± 0,07	2,42 ± 0,06

Os valores representam a média ± desvio padrão (n=10) . O teste-t pareado foi utilizado para comparar os parâmetros referentes as análises de micro-CT antes e após a dissolução eletroquímica. **p < 0.01 vs. pré-tratamento.

A análise da média dos valores de carga elétrica foram obtidos no final de cada ensaio. Os valores médio de carga elétrica em canal simulado 0,36 (±0,05) C apresentaram um valor médio próximo ao dente extraído 0,26 C (± 0,08) C.

4. Discussão

A fratura de limas é um problema conhecido na clínica odontológica. Estudos anteriores utilizando o método de dissolução eletroquímica tem demonstrado grande eficácia na recuperação do trajeto original do canal (ORMIGA et al., 2010; ABOUD et al., 2014; AMARAL et al., 2015; ORMIGA et al., 2015).

Recentemente, Kowalczuck et al. (2017) demonstrou a redução do comprimento de fragmentos de limas fraturadas em canais radiculares de incisivos inferiores através do processo de dissolução eletroquímica utilizando soluções de fluoreto e cloreto de sódio em diferentes concentrações (KOWALCZUCK et al., 2017). No entanto, os protocolos experimentais utilizados por esses autores estão distantes de uma situação clínica, uma vez que, os dentes foram completamente imersos em 300 mL de solução teste. A solução utilizada deveria ter sido restrita a câmara pulpar. Portanto, mais estudos em dentes são necessários adaptando a metodologia utilizada no sentido de viabilizar o seu uso na clínica.

No presente estudo, o método de dissolução eletroquímica foi testado utilizando molares superiores. A metodologia usada neste estudo foi similar ao estudo piloto realizado em canais simulados (Figura 8) e baseada em estudos preliminares utilizando blocos de resina com canal simulado (ORMIGA et al., 2010; ABOUD et al., 2014; AMARAL et al., 2015; ORMIGA et al., 2015), mudando apenas alguns parâmetros para testar a nova metodologia que consiste na utilização de 2 eletrodos e volume de solução restrito à câmara pulpar. Logo, foram definidos a utilização de um potencial de +1,0V_(ECS), o tempo de 120 minutos e o volume de solução de 600µl. Nesta metodologia, é importante ressaltar que o dente não ficou completamente imerso na solução.

A escolha da solução [NaF 12g/L + NaCl 1g/L], pH= 5,0 foi baseada nos estudos de Aboud et al. (2014), que observaram a dissolução de limas em canais radiculares simulados nesta solução (ABOUD et al., 2014). A concentração de fluoreto foi escolhida em concordância com o estudo de Aboud et al. (2014) e Saunders et al. (2005), que utilizaram em seus estudos uma concentração de fluoreto de 12,3g/L, sendo uma concentração aceitável para o uso na endodontia, pois não altera as propriedades dentinárias (SAUNDERS et al., 2005; ABOUD et al., 2014).

A utilização do pH=5,0 nos ensaios foi baseado nos estudos de Marshall (1997), Ormiga et al. (2010) e Aboud et al. (2014), considerando que nesta faixa de pH há uma menor possibilidade de alteração da estrutura dentinária nas paredes dos canais

radiculares, uma vez que valores mais baixos de pH tendem a provocar descalcificação deste tecido (MARSHALL et al., 1997; ORMIGA et al., 2010; ABOUD et al., 2014).

Durante o preparo químico-mecânico dos canais radiculares os instrumentos são submetidos a grandes tensões e deformações que podem variar de acordo com a anatomia do canal radicular e a habilidade do profissional. Nessas condições os instrumentos podem vir a fraturar no terço médio ou apical do dente, o que vai definir é a presença da curvatura podendo levar em muitos casos a perda do elemento dentário (SCHNEIDER, 1971; PRUETT et al., 1997; ZELADA et al., 2002; RUDDLE, 2004; SPILI et al., 2005; IQBAL et al., 2006; WOLCOTT et al., 2006; TZANETAKIS et al., 2008). Diante disso, o presente estudo avaliou através do método de dissolução proposto por Ormiga *et al.* (2010) a dissolução do fragmento de lima fraturada no terço médio utilizando a solução de [NaF12g/L + NaCl11g/L].

As análises radiográficas mostraram a ultrapassagem com a lima #08 do fragmento localizado no terço médio em todos os blocos e dentes (n=10) analisados, expressando um resultado favorável à obtenção no sucesso do tratamento endodôntico. O método de avaliação radiográfica possibilita um diagnóstico de rotina na prática odontológica, principalmente na área da Endodontia (FERREIRA, 2007; PIRES, 2009; ORMIGA et al., 2010).

Logo, a avaliação radiográfica foi utilizada com a finalidade de analisar os fragmentos das limas no interior dos canais simulados antes e após o processo de dissolução eletroquímica. As análises radiográficas de canais simulados e dos canais radiculares de molares superiores não mostraram a perda de comprimento do fragmento, mas foi possível observar a ultrapassagem do fragmento no terço médio por uma lima manual K #08, confirmando a desobstrução dos canais. A dissolução parcial do fragmento possibilitou a recuperação do trajeto original do canal, permitindo o preparo químico-mecânico do canal em todo o seu comprimento. A aplicação do potencial de +1,0 V_(ECS) por 120 minutos nos fragmentos de limas de aproximadamente 3 mm de comprimento no interior de canais simulados e dentes não resultaram na dissolução total do fragmento, como observado radiograficamente (Figura 11). O tempo de 2 horas utilizado no processo de dissolução eletroquímica contribui para viabilidade clínica deste método. Este tempo foi escolhido em função do tempo máximo de exposição clínica da substância irrigadora endodôntica à superfícies dentinárias ser de aproximadamente 2h (GRIGORATOS et al., 2001; SIM et al., 2001).

A micro-CT tem sido amplamente utilizada para avaliação da qualidade do preparo de canais (NIELSEN et al., 1995). Essa metodologia não invasiva possibilita a comparação do mesmo canal radicular antes e depois do preparo químico-mecânico, de maneira tridimensional, permitindo o estudo de diferentes parâmetros anatômicos e geométricos, como por exemplo, a porcentagem de debris acumulados, variações de área e volume dos canais e presença de microfraturas. (NIELSEN et al., 1995; DE-DEUS et al., 2014; DE-DEUS et al., 2015).

Através da análise microtomográfica, foi possível observar que após os ensaios de dissolução eletroquímica, houve uma redução significativa no volume dos fragmentos no interior dos canais radiculares. A redução volumétrica dos fragmentos de limas induzida pelo processo de dissolução eletroquímica, foi experimentalmente confirmada pela ultrapassagem bem sucedida pelo fragmento como evidenciado através da análise radiográfica. No entanto, o processo de dissolução eletroquímica não alterou, a área livre entre o fragmento e o canal e o comprimento do fragmento. É importante ressaltar, que esses parâmetros são analisados bidimensionalmente diferente da medida volumétrica dos fragmentos.

Quando uma lima encontra-se fraturada no interior do canal radicular, sua dissolução eletroquímica pode contribuir para a desobstrução do conduto facilitando o tratamento endodôntico sem danos à estrutura dentária, o que é bastante interessante, já que, na literatura os métodos de remoção de limas fraturadas apresentam limitações, podendo muitas vezes ocasionar a fragilização da estrutura dentinária, levando à perda do dente.

No entanto, mais estudos são necessários para o desenvolvimento de um dispositivo feito com um anodo conectado ao fragmento da lima através de uma ponta inerte que conduza a corrente elétrica. A ponta inerte e o catodo devem ser introduzidos no interior do canal radicular entrando em contato com o fragmento da lima contendo um eletrólito que garanta a transferência de elétrons do anodo para o catodo (ORMIGA et al., 2010).

Diante dos resultados obtidos no presente estudo, o método de dissolução eletroquímica pode ser considerado promissor, pois reduziu o volume do fragmento no interior dos canais radiculares e permitiu a ultrapassagem do fragmento de lima. Cabe ressaltar que este é o primeiro estudo utilizando molares superiores onde a metodologia está mais próxima da clínica quando comparado com estudos anteriores (ORMIGA et al.,

2010; ABOUD et al., 2014; AMARAL et al., 2015; ORMIGA et al., 2015; KOWALCZUCK et al., 2017).

CAPÍTULO III

1. Avaliação dos efeitos da solução eletroquímica de limas endodônticas de níquel-titânio sobre a estrutura dentinária, microdureza e viabilidade celular

1.1. Introdução e Objetivo

O uso de soluções de fluoreto de sódio e cloreto de sódio no processo de dissolução eletroquímica foi descrito como promissor para a ultrapassagem de limas fraturadas do interior dos canais radiculares (ORMIGA et al., 2010; ABOUD et al., 2014; AMARAL et al., 2015; ORMIGA et al., 2015). As soluções que contêm fluoreto e cloreto são amplamente utilizadas na odontologia para vários fins, como a remineralização das estruturas dentinárias (GONZALES et al., 2011) e a desinfecção do canal radicular (LOPES & SIQUEIRA, 2004). Portanto, a escolha das soluções contendo fluoreto e cloreto no processo de dissolução eletroquímica foi altamente baseada em soluções que são comumente usadas em várias áreas da odontologia (ABOUD et al., 2014). No entanto, essas soluções devem ter baixa reatividade com a dentina radicular, bem como baixo potencial citotóxico, para permitir sua aplicação clínica.

O objetivo deste capítulo foi avaliar os efeitos da solução [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] utilizada no processo de dissolução eletroquímica de limas endodônticas fraturadas, bem como seu produto contendo NiTi, na microdureza da dentina, topografia e viabilidade de fibroblastos humanos.

2. Materiais e Métodos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (números de protocolo 1.187.133 e 1.248.843). Noventa e seis dentes unirradiculares humanos foram extraídos por motivos terapêuticos e acondicionados em frascos individuais contendo formol 10% até o momento dos testes, quando foram lavados com água corrente por 24 horas para eliminar qualquer resquício desta solução. A coroa dos dentes foi removida utilizando-se um disco de carborundum para a padronização do comprimento das amostras em 13 mm, e o tecido pulpar foi removido dos canais radiculares. Após este procedimento, as raízes foram divididas de acordo com o tipo de análise.

2.1. Ensaio de microdureza da dentina

Vinte dentes humanos unirradiculares foram utilizados nos ensaios de microdureza da dentina. Um sulco foi feito ao longo eixo da raiz nas faces mesial e distal com aproximadamente 2mm de profundidade utilizando um disco de carborundum.

As 20 raízes foram então posicionadas em uma base de cera Utility New Wax-Technew (Rio de Janeiro, Brasil) e clivadas longitudinalmente no sentido mesio - distal com auxílio de um estilete Olfa (Rio de Janeiro, Brasil) posicionado no sulco e um Martelo Mead Quinelato (São Paulo, Brasil), originando 40 amostras (Figura 16 A-D). Em seguida, as amostras foram embutidas em resina epóxi deixando a superfície de clivagem e a parede do canal expostas (Figura 16E). A superfície de clivagem das 40 amostras foram lixadas com lixas abrasivas de granulação de 600, 1200 e 2500 e posteriormente lavadas com água destilada para remoção das impurezas da superfície. Os valores de microdureza da dentina foram obtidos nos terços cervical, médio e apical da raiz através de um microdurometro de dureza Vickers (Buehler, Hiroshima, Japão) com carga de 300g durante 15 segundos (Figura 17). Uma edentação foi feita em cada terço da raiz na superfície de clivagem a uma distância de 0,3 mm da parede do canal radicular. Posteriormente as amostras foram randomizadas em 4 grupos (n=10) de acordo com o tratamento da superfície dentinária: Grupo I: água destilada; Grupo II : EDTA 17% + água destilada; Grupo III: solução de [NaF12g/L+NaCl 1g/L] + água destilada; Grupo IV: EDTA 17% + água destilada + solução de [NaF12g/L+NaCl1g/L] + água destilada. Todas as soluções permaneceram em contato com a superfície dentinária por 5 minutos, conforme recomendado pelo fabricante, com exceção da solução de

[NaF12g/L+NaCl1g/L] que permaneceu em contato com esta superfície por 1 hora (ABOUD et al., 2014; AMARAL et al., 2015; ORMIGA et al., 2015). Após o tratamento da superfície, os valores de microdureza foram aferidos novamente nos terços cervical, médio e apical.

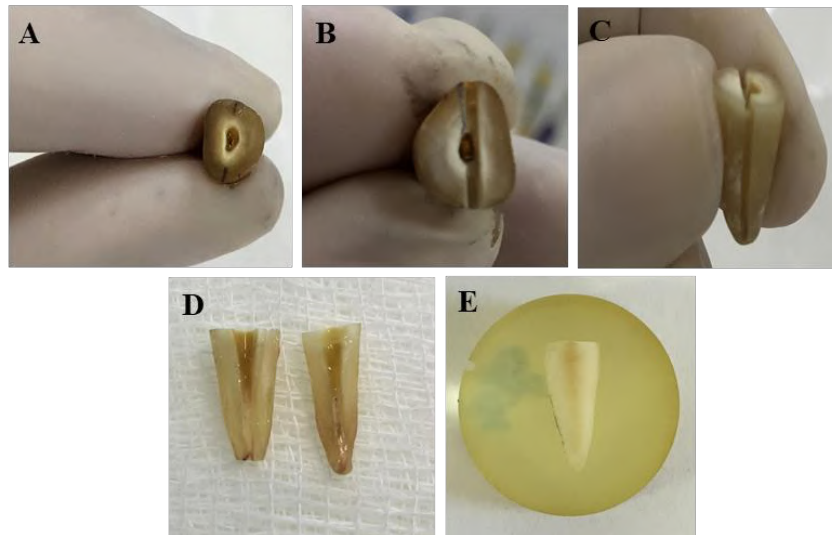


Figura 16. (A-D) Sequência de clivagem longitudinal do dente. (E) Amostra embutida em resina epóxi com a superfície de clivagem e a parede do canal expostas.

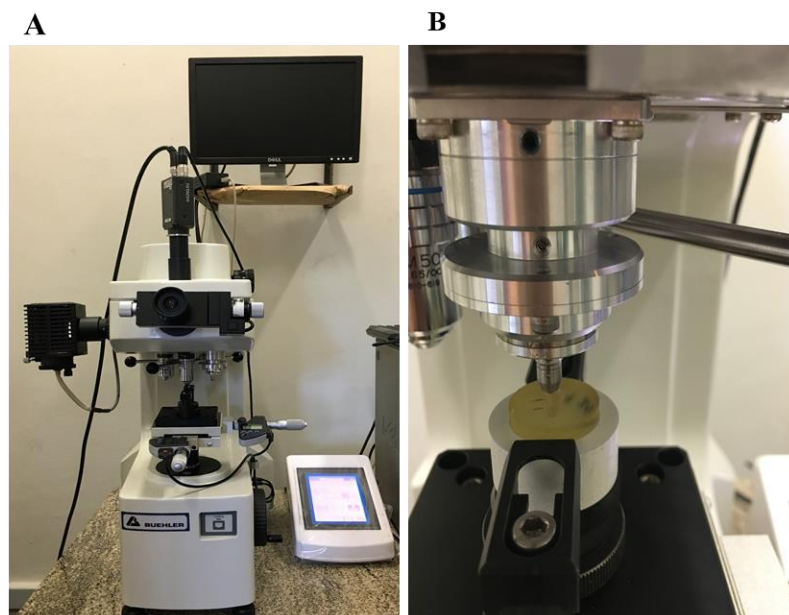


Figura 17. (A) Microdurometro de dureza Vickers. (B) Imagem representativa do método de edentação no terço cervical do canal radicular.

2.2. Análise da dentina por MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura)

Quarenta dentes unirradiculares humanos foram utilizados na análise da dentina por MEV. Os canais radiculares foram instrumentados utilizando o sistema rotatório ProTaper de limas de NiTi (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça). O preparo dos terços cervical e médio dos canais radiculares foi realizado utilizando os instrumentos S1 e S2 5mm aquém do forame apical. O comprimento de patência foi determinado através do posicionamento de uma lima manual #10 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) no canal de forma que sua ponta fosse visualizada no forame apical. Após a avaliação radiográfica, o comprimento de trabalho foi estabelecido 1 mm aquém do comprimento de patência. A padronização do forame foi feita com uma lima manual NiTi flex (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Suíça) tamanho #30 no comprimento de trabalho. O preparo apical foi realizada com os instrumentos S1, S2, F1, F2 e F3 no comprimento de trabalho. Todos os canais foram irrigados com hipoclorito de sódio 5,25% durante o preparo químico-mecânico.

Após o preparo dos canais radiculares as amostras foram randomizadas em 4 grupos (n=10) de acordo com o protocolo de irrigação final dos canais radiculares: Grupo V: água destilada; Grupo VI: água destilada + EDTA 17%; Grupo VII: água destilada + solução de [NaF12g/L+NaCl 1g/L]; Grupo VIII: água destilada + EDTA 17% + água destilada + solução de [NaF12g/L+NaCl 1g/L].

Todas as soluções permaneceram no interior dos canais radiculares durante 5 minutos de acordo com o fabricante. Nos grupos VII e VIII, a solução [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] permaneceu no interior do canal radicular durante 1 hora, com renovação a cada 10 minutos, pois esse período foi o tempo necessário para o processo de dissolução eletroquímica de fragmentos de limas endodônticas de acordo com relatos anteriores (ABOUD et al., 2014; AMARAL et al., 2015; ORMIGA et al., 2015). No final do protocolo de irrigação, os canais radiculares foram lavados com água destilada e secos com cones de papel absorvente estéril Protaper F3 (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Suíça). Então, as raízes foram clivadas longitudinalmente no sentido mesio- distal, conforme descrito anteriormente na seção de avaliação de microdureza. As amostras foram metalizadas com um recobrimento a base de ouro e analisadas com aumento de 2000x nas regiões cervical, média e apical dos canais radiculares utilizando um microscópio eletrônico de varredura (JSM 6460 LV, JEOL, Tóquio, Japão) (Figura 18 A-C). Para cada amostra (n = 10), pelo menos 1 campo microscópico escolhido

aleatoriamente foi selecionado de cada terço do canal radicular. As determinações da área e do número dos túbulos dentinários foram realizadas com o software Image Pro Plus 6.0 (Media Cybernetics Inc., Bethesda, MD, EUA)(Figura 18D). A sequência de análise utilizada neste processo foi a seguinte: calibração de imagem, conversão de imagem de 16 bits, obtenção do histograma da imagem, linearização do histograma, segmentação da imagem a partir do histograma e contagem dos túbulos. A medida da área média dos túbulos dentinários de cada imagem foi obtida em μm^2 .

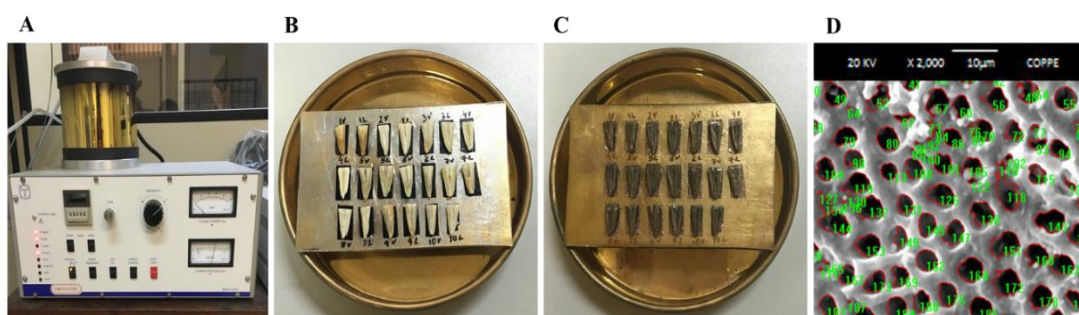


Figura 18. (A) Metalizador. (B) Preparo das amostras antes da metalização. (C) Amostras após a metalização. (D) Imagem representativa da contagem e determinação da área dos túbulos dentinários através do software Image Pro Plus 6.0.

2.3. Ensaio de citotoxicidade

2.3.1. Preparo das soluções

Foram utilizadas duas soluções experimentais diferentes no ensaio de citotoxicidade: solução [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] e a mesma contendo o produto da dissolução de limas de NiTi: [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L + NiTi]. Para a preparação do produto de dissolução, utilizamos três limas ProTaper F1 (13 mm), correspondente a uma massa de 50 mg de NiTi.

Foi utilizada uma célula eletroquímica, contendo um eletrodo de calomelano saturado como referência, um eletrodo de platina como contra- eletrodo e uma lima de NiTi ProTaper F1 como eletrodo de trabalho (Figura 19). Os eletrodos foram imersos em 100 mL da solução [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] e conectados a um Potenciostato AutoLab controlado por computador (Metrohm, Herisau, Suíça). A imersão dos instrumentos foi limitada a 13,0 mm da ponta da lima. Um potencial anódico constante de +0,7 V_(ECS) foi aplicado até a dissolução total da porção imersa da lima de NiTi ProTaper F1 enquanto a

corrente gerada foi registrada. O ensaio foi realizado em triplicata e, para cada ensaio, três limas foram dissolvidas sequencialmente na mesma solução; a solução resultante foi então armazenada em dois tubos Falcon de 50 mL para a quantificação de níquel (Ni) por absorção atômica, com um limite inferior e superior de detecção para Ni de 0,06 e 0,21 mg / L, respectivamente.

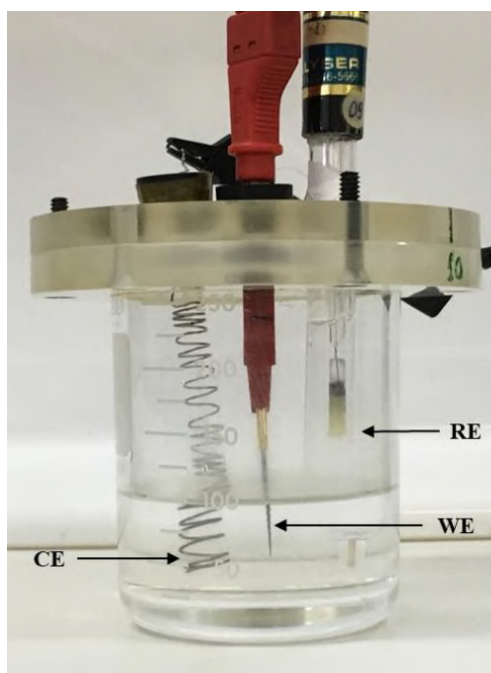


Figura 19. Célula eletroquímica de três eletrodos utilizadas nos ensaios de amperometria. CE= contra-eletrodo; WE= eletrodo de trabalho (lima ProTaper F1 de NiTi); RE= eletrodo de referência.

2.3.2. Preparo do sistema de teste

Trinta e seis dentes unirradiculares humanos foram preparados usando o sistema rotatório ProTaper de limas de NiTi (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça), conforme descrito anteriormente na seção de microscopia eletrônica de varredura. A “smear layer” dos canais radiculares foi removida utilizando EDTA 17% por 5 minutos. Os canais radiculares foram lavados com água destilada e secos com cones de papel absorvente estéril Protaper F3 (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Suíça). Após o preparo químico-mecânico dos canais radiculares, cada raiz foi colocada dentro de um microtubo de polipropileno de 1,5 mL à 1 mm da porção final, de modo que 3 mm da raiz pudessem se projetar para fora do tubo. Um anel de borracha (\varnothing 0,5 cm) foi inserido na extremidade

superior de cada microtubo de plástico, conforme descrito anteriormente (DE-DEUS et al., 2009) e apresentado na Figura 20. Após o ajuste do conjunto (sistema de teste) contendo os seguintes itens: (microtubo + anel de borracha + raiz do dente), os conjuntos foram esterilizados individualmente em uma autoclave a 135 ° C durante 35 minutos.

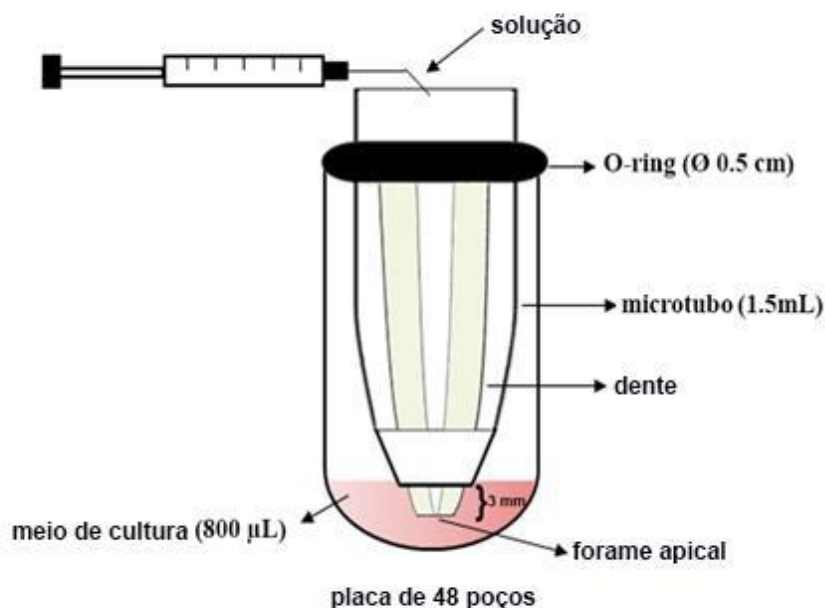


Figura 20. Esquema representativo do sistema de teste utilizado para avaliação da citotoxicidade, ilustrando um poço de uma placa de 48 poços. Cada solução de teste foi inserida no canal radicular onde permaneceu por 1 hora. Posteriormente, o meio de cultura foi coletado a partir da placa e armazenado em uma estufa à 37°C durante 24h antes do tratamento de cultura celular.

2.3.3. Preparo do extrato

Cada um dos doze conjuntos foram colocados aleatoriamente em um poço de uma placa de 48 poços (Falcon, Franklin Lakes, NJ) contendo 800 µL de Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) mais soro bovino fetal 10% (SFB). Apenas 3 mm da raiz estavam em contato com o meio de cultura celular (Figura 20). O canal radicular de cada amostra foi preenchido com 100 µl das seguintes soluções: DMEM LOW + SFB 10%; hipoclorito de sódio 5,25%; solução de [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] e produto da

dissolução [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L + NiTi], que permaneceu dentro do canal radicular durante 1 hora. Após, as soluções foram então removidas do canal radicular usando um sugador endodôntico (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Suíça), e secos com cones de papel absorvente estéril Protaper F3 (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Suíça). Após este procedimento, os dentes foram retirados dos poços da placa e armazenados individualmente. Cada extrato (DMEM + solução difusa) foi coletado do poço da placa usando uma micropipeta e transferido para um microtube de plástico identificado. Estes foram armazenados em uma estufa à 37°C durante 24 h. Todos os procedimentos foram realizados em três experimentos independentes em triplicata.

2.3.4. Cultura de células

Os fibroblastos primários da pele humana foram adquiridos pelo Banco de células do Rio de Janeiro e utilizados nos ensaios de citotoxicidade. Resumidamente, a pele do prepúcio foi coletada de pacientes com idades entre 1 a 13 anos que foram submetidos à cirurgia programada para postectomia após obter o consentimento do doador responsável. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (protocolo número 46799215.1.0000.5283). Inicialmente, a pele foi levada a uma placa de Petri, onde foi cortada em fragmentos menores de aproximadamente 0,5 x 0,5 cm². Os fragmentos foram subsequentemente submetidos a digestão enzimática com colagenase IA (C9891, Sigma-Aldrich) diluída em meio de cultura DMEM (DMEM, D5523, Sigma-Aldrich) com agitação constante à 37°C durante 3 h. No final desta incubação, a atividade de colagenase foi inibida com DMEM suplementado com soro fetal bovino à 10% (SFB, Vitrocell). A suspensão celular obtida foi homogeneizada e filtrada através de um filtro de células (Z742101, Sigma-Aldrich) com um poro de 100 µm e depois centrifugada a 700 rcf durante 15 minutos. As células foram semeadas e cultivadas em DMEM, suplementadas com Soro Fetal Bovino à 10% e os antibióticos ciprofloxacina (10 mg / mL) e anfotericina B (2,5 mg / mL), a uma densidade de 6 x 10⁶ células/cm² em uma estufa à 37°C CO₂5%. As células foram expandidas, criopreservadas e avaliadas quanto à presença de contaminantes microbiológicos usando testes de cultura microbiológica, PCR e bioluminescência. Apenas foram utilizadas células livres de bactérias (incluindo micoplasma) e fungos. A morfologia celular foi avaliada utilizando microscopia óptica (ZEISS, Alemanha).

2.3.5. Ensaio de MTT para viabilidade celular

As células em placas de 96 poços foram expostas a DMEM + SFB 10% (controle negativo), Triton X-100 1% (controle positivo) e a extratos obtidos como descrito acima na seção de preparo de extrato: DMEM + SFB 10%; hipoclorito de sódio 5,25%; solução de [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] e produto da dissolução [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L + NiTi] à diferentes concentrações de volume de extrato (100% à 12,5% em DMEM + SFB à 10%). As placas foram mantidas em uma estufa durante 24 horas à 37°C CO₂ 5%, de acordo com a Organização Internacional de Normalização (ISO 10993-5/3:2009) (STANDARDIZATION, 2009). Posteriormente, o meio de cultura foi substituído, após lavagem com PBS, com 0,5 mg/mL de MTT (Sigma, St. Louis, Mo., EUA) diluído em PBS e incubado durante 3 h. O corante não reagido foi removido por aspiração e os cristais de formazana azul escuro, que foram solubilizados pela adição de dodecilsulfato de sódio à 0,2%, foram medidos através da variação na absorbância à 570 nm utilizando um espectrofotômetro de leitura de placas (SynergyTM H4 - Biotek). A viabilidade celular relativa (%) comparando os poços controle contendo meio de cultura celular sem o extrato, foi calculada de acordo com a fórmula: $[A570] / \text{controle } [A570] \times 100$. Todos os ensaios foram realizados três vezes em triplicata.

2.4. Análise estatística

Os resultados foram expressos como a média \pm desvio padrão para cada grupo e as comparações entre os grupos foram feitas usando testes-t pareados para comparar a microdureza pré e pós-tratamento em cada terço radicular. O teste ANOVA One Way foi utilizado, seguido do pós-teste de Tukey, para comparar as diferenças nas variações de microdureza dentinária, bem como o número e a área dos túbulos dentinários entre grupos experimentais em cada terço radicular.

Para a análise do MTT, os dados não apresentaram uma distribuição normal, de acordo com os testes D'Agostino e Pearson, desta forma o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e o pós-teste de Dunn foram aplicados. Os valores de $p < 0,05$ (intervalo de confiança de 95%) foram considerados significativos. Todos os cálculos foram realizados usando um software estatístico.(GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, EUA).

3. Resultados

A Tabela 2 mostra os resultados da análise de microdureza dentinária antes e após os tratamentos, bem como as variações de microdureza após o tratamento (ΔHV). Nos grupos I e III, não houve diferença significativa na microdureza dentinária do canal radicular antes e após o tratamento, exceto no terço cervical do Grupo I, que apresentou aumento da microdureza dentinária após o tratamento ($p < 0,05$). Após o tratamento, os grupos II e IV mostraram uma redução na microdureza da dentina em todos os três terços radiculares ($p < 0,05$). A comparação do grupo II versus IV não mostrou diferença quanto à variação da microdureza da dentina (ΔHV) nos três terços radiculares, em contraste com as comparações entre o grupo I versus II e I versus IV ($p < 0,05$). Diferenças significativas na variação da microdureza dentinária (ΔHV) ocorreram entre os grupos I e III apenas no terço médio, não nos terços cervical e apical das raízes ($p < 0,05$).

Tabela 2. Teste de microdureza Vickers (HV) da dentina do canal radicular nos terços cervical (C), médio (M) e apical (A) antes e após o tratamento e variação de microdureza (Δ HV).

Grupo	Terço	Pré-tratamento	Pós-tratamento	Delta (HV)
I	C	48,32 \pm 3,20	51,10 \pm 2,35 ^a	+3,65 \pm 1,04 ^b
	M	50,33 \pm 3,38	52,46 \pm 2,78	+2,44 \pm 1,23 ^d
	A	47,80 \pm 3,01	48,95 \pm 2,38	+1,15 \pm 1,28 ^f
II	C	48,84 \pm 2,38	45,11 \pm 1,21 ^a	-4,96 \pm 1,27 ^c
	M	47,76 \pm 2,08	44,39 \pm 1,94 ^a	-3,37 \pm 1,58 ^e
	A	43,46 \pm 1,96	39,96 \pm 2,15 ^a	-4,75 \pm 1,31 ^g
III	C	44,70 \pm 3,35	44,70 \pm 2,25	+0,34 \pm 2,17 ^b
	M	48,41 \pm 1,90	46,46 \pm 1,45	-1,94 \pm 1,12 ^e
	A	42,41 \pm 2,71	40,53 \pm 2,44	-1,87 \pm 1,12 ^f
IV	C	42,17 \pm 2,09	39,75 \pm 2,09 ^a	-3,42 \pm 1,38 ^c
	M	45,41 \pm 1,79	41,03 \pm 1,74 ^a	-4,44 \pm 0,71 ^e
	A	39,71 \pm 2,42	36,35 \pm 3,37 ^a	-3,36 \pm 0,82 ^g

Os valores representam a média \pm desvio padrão (n = 10). Teste-t de student pareado para comparações pré e pós-tratamento dos diferentes grupos em cada terço radicular; ^a p <0,05 versus pré-tratamento. ANOVA One Way seguido do pós teste de Tukey para os diferentes grupos experimentais em cada terço radicular; letras diferentes em cada terço indicam p <0,05. Grupo I: água destilada; Grupo II: EDTA 17%; Grupo III: solução de [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L]; Grupo IV: EDTA 17% + solução de [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L].

A Figura 21 mostra imagens representativas obtidas por microscopia eletrônica de varredura de todos os grupos experimentais em cada terço do canal radicular. Os túbulos dentinários foram mais evidentes nos grupos II e IV em comparação com os grupos I e III, nos quais as paredes do canal parecem parcialmente cobertas por vários fragmentos.

O terço apical de todos os grupos apresentou túbulos dentinários menos evidentes do que os terços cervical e médio. Além disso, observamos a erosão dos túbulos dentinários no grupo II.

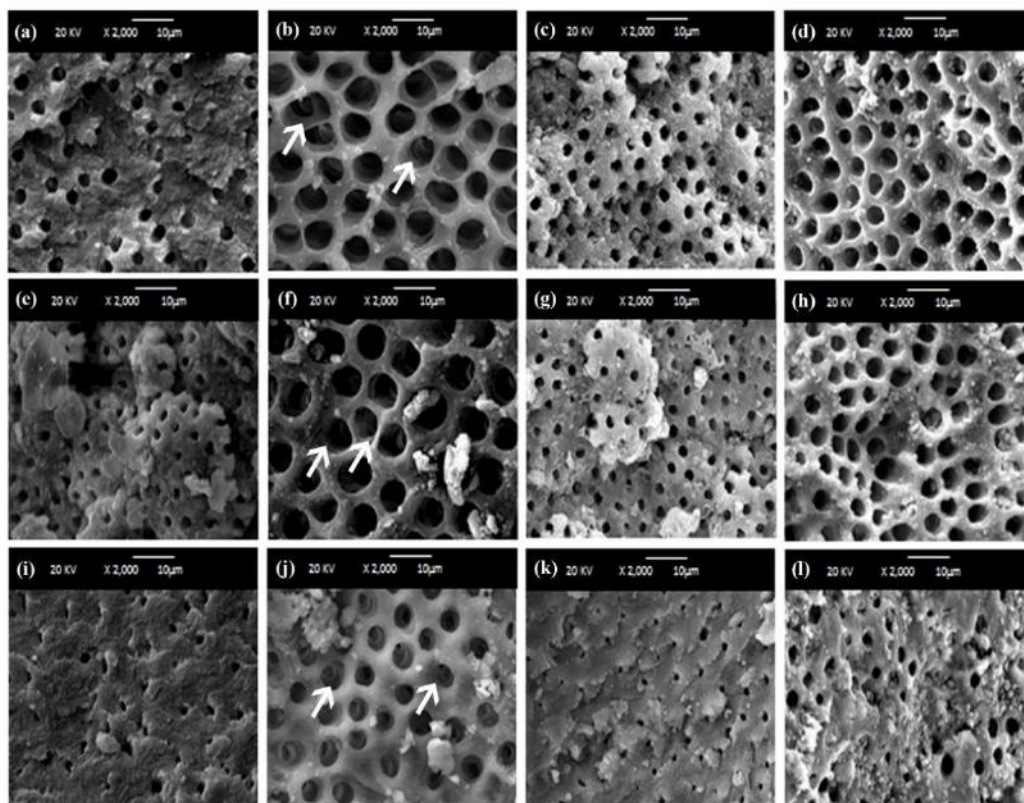


Figura 21. Micrografias eletrônicas de varredura representativas avaliando a morfologia da dentina radicular após o tratamento com água destilada (Grupo I - a, e, i); EDTA 17% (Grupo II - b, f, j); solução de [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] (Grupo III - c, g, k); e EDTA 17% + solução de [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] (Grupo IV - d, h, l); terço cervical (a, b, c, d), terço médio (e, f, g, h) e terços apical (i, j, k, l).

A Tabela 3 mostra o efeito de cada solução testada no número e na área média dos túbulos dentinários. Considerando que cada terço avaliado (cervical, médio e apical), o grupo IV apresentou maior número de túbulos dentinários do que o grupo I ($p < 0,05$), sem efeitos observados para as demais soluções. Do mesmo modo, o grupo IV mostrou uma área média maior de túbulos de dentina do que o grupo I em todos os terços avaliados. No entanto, nos terços cervical e médio, a área média dos túbulos dentinários no grupo II foi maior do que no grupo I ($p < 0,05$). O tratamento do Grupo III não afetou a área média do túbulo dentinário quando comparado ao grupo I nos três terços radiculares.

Tabela 3. Número (N) e área (A) dos túbulos da dentina nos terços da raiz cervical, média e apical.

Grupo	Cervical		Médio		Apical	
	N	A (μm^2)	N	A (μm^2)	N	A (μm^2)
I	127 \pm 16 ^a	0,30 \pm 0,04 ^g	96 \pm 9 ^e	0,43 \pm 0,13 ^k	72 \pm 12 ^e	0,28 \pm 0,03 ^l
II	131 \pm 7 ^{a,b}	1,41 \pm 0,20 ^h	107 \pm 4 ^c	1,46 \pm 0,22 ^j	97 \pm 8 ^e	0,62 \pm 0,13 ^{l,m}
III	158 \pm 12 ^{a,b}	0,65 \pm 0,08 ^{g,h}	140 \pm 8 ^c	0,91 \pm 0,10 ^{k,j}	86 \pm 10 ^e	0,66 \pm 0,15 ^{l,m}
IV	189 \pm 21 ^b	2,53 \pm 0,39 ⁱ	187 \pm 17 ^d	1,52 \pm 0,26 ^j	164 \pm 13 ^f	0,82 \pm 0,13 ^m

Os valores representam a média \pm desvio padrão (n = 10). ANOVA One Way seguido do pós teste de Tukey para comparações entre grupos experimentais no mesmo terço radicular para o número (N) e área (A) dos túbulos dentinários; diferentes letras indicam diferenças significativas entre os grupos, e letras equivalentes indicam a ausência de diferença significativa (p < 0,05). Grupo I: água destilada; Grupo II: EDTA 17%; Grupo III: solução de [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L]; Grupo IV: EDTA 17% + solução de [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L].

A dissolução total de três limas de NiTi ProTaper F1 em 100 mL de solução [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] sob um potencial anódico constante de +0,7 V_(SCE) produziu 0,26 mg de Ni / mL.

No ensaio de citotoxicidade, os tratamentos DMEM + SFB 10% e Triton X-100 1%, os respectivos grupos de controle positivo e negativo, foram efetivos (Figura 22). O extrato puro de dentes expostos a DMEM + SFB 10% não promoveu citotoxicidade. Todas as soluções de teste não foram tóxicas com a diluição de 12,5%, mas hipoclorito de sódio 5,25% à uma diluição de 25% matou 80% das células; em contraste, as soluções [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] e [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L + NiTi] mataram aproximadamente 20% das células na mesma diluição. Em diluições de 50%, quase todas as células morreram quando expostas a hipoclorito de sódio; por outro lado, as soluções [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] e [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L + NiTi] mataram aproximadamente 60% e 80% das células, respectivamente. Os extratos puros de

hipoclorito, soluções [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] e [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L + NiTi] mataram mais 90% das células.

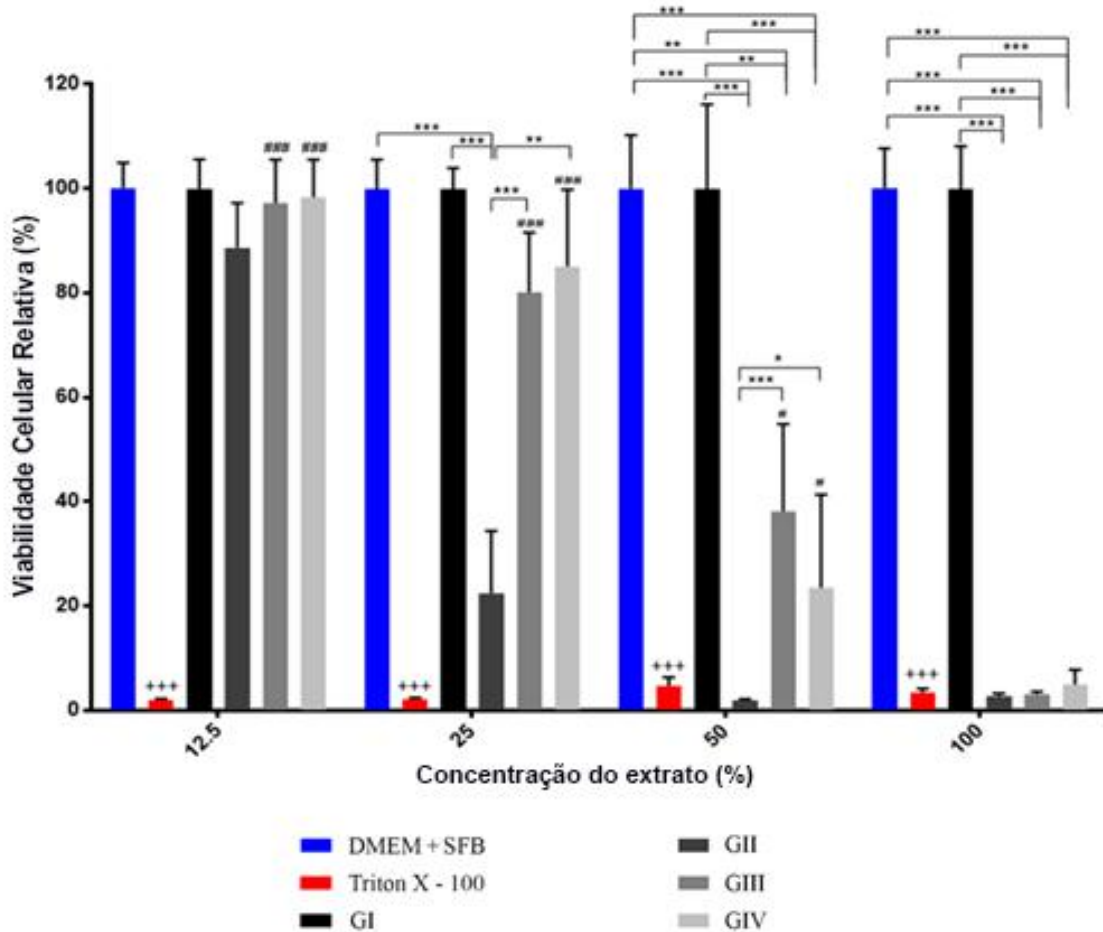


Figura 22. Viabilidade celular relativa de fibroblastos humanos (%) após 24 horas de exposição a diferentes concentrações de extrato (100, 50, 25 e 12,5%). Controle negativo: células expostas apenas a DMEM + SFB à 10%, controle positivo: Triton X-100 à 1%. Grupo I - DMEM + SFB 10%; Grupo II - hipoclorito de sódio à 5,25%; Grupo III – solução de [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L]; Grupo IV - produto da dissolução [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L + NiTi]. Os valores representam a média e o desvio padrão de três experimentos independentes realizados em triplicata para cada grupo experimental. Os testes de Kruskal-Wallis e os pós-teste de Dunn foram realizados para analisar a viabilidade celular (porcentagem) dos grupos experimentais em cada diluição. +++ p <0,001, 1% de Triton X-100 vs. DMEM + 10% de SFB e Grupo I; #p <0,05, ### p <0,001 Grupo III e Grupo IV vs. 1% Triton X-100, respectivamente; ** p <0,01; *** p <0,001.

4. Discussão

Vários métodos utilizados para a remoção de limas fraturadas, principalmente os métodos mecânicos, podem causar o enfraquecimento e alterações estruturais na dentina (MCGUIGAN et al., 2013; MONTEIRO et al., 2014). Nesse sentido, o método de dissolução eletroquímica utilizando a solução [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L], não modificou a microdureza da dentina ou a área média dos túbulos da dentina. Além disso, a solução [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/ L] e o produto da dissolução, contendo NiTi, demonstraram menor citotoxicidade do que o hipoclorito de sódio, que é comumente usado na clínica odontológica (ZEHNDER, 2006).

O preparo químico-mecânico tem por objetivo promover a limpeza e modelagem do sistema de canais radiculares utilizando instrumentos endodônticos e soluções químicas auxiliares. Esses objetivos são alcançados simultaneamente durante o preparo do canal radicular (DA SILVA et al., 2008). O emprego de irrigantes é extremamente relevante, pois os instrumentos mecânicos nem sempre tocam nas paredes do canal durante o preparo do sistema de canais radiculares e existem regiões de complexidade anatômica onde é impossível o alcance pelo preparo químico-mecânico (RICUCCI et al., 2010; ARNOLD et al., 2013).

Os principais objetivos do uso de soluções químicas durante o tratamento dos canais radiculares incluem a dissolução do tecido vivo ou necrosado, a eliminação ou redução máxima de micro-organismos, lubrificação, quelação de íons de cálcio e remoção de detritos advindos do preparo químico-mecânico. Um irrigante ideal deve demonstrar forte atividade antibacteriana e dissolver os tecidos necróticos sem prejudicar os tecidos periodontais (ZEHNDER, 2006).

O NaOCl pode causar alterações relevantes nas fibras de colágeno da dentina, o que resulta no enfraquecimento dentário e redução das forças de adesão à dentina (PERDIGAO et al., 2000). Além disso, os agentes quelantes utilizados no canal radicular podem reagir com íons de cálcio, alterando a microestrutura dentinária e a proporção cálcio / fósforo (BARBOSA et al., 1994; DINESHKUMAR et al., 2012) levando a uma menor dureza dentinária (QIAN et al., 2011; ASLANTAS et al., 2014; TUNCEL et al., 2015). Isso pode comprometer a capacidade de adesão e vedação de diferentes materiais utilizados na prática odontológica (PASCON et al., 2009).

Foi demonstrando que os valores de microdureza dentinária diminuí das regiões superficiais em direção as regiões mais profundas da dentina radicular (SALEH et al.,

1999). Isso poderia ser explicado pelo fato dos túbulos dentinários serem mais amplamente abertos próximos a região pulpar, o que ofereceria uma menor resistência ao edentador de teste de microdureza (SALEH et al., 1999). Logo, foi proposto que a microdureza dentinária tenha uma correlação inversa com a densidade tubular (PASHLEY et al., 1985). Baseado nessas variações, o presente estudo usou edentações nos terços cervical, médio e apical do canal radicular para medir a microdureza dentinária usando o teste de microdureza de Vicker's (TUNCER et al., 2015); estas edentações foram realizadas a 0,3 mm da superfície da parede do canal. Além da densidade tubular e da região do canal, o tempo de interação com a solução de irrigação deve ser considerado outro fator que pode influenciar a microdureza dentinária (PASHLEY et al., 1985).

No presente estudo, a solução [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] utilizada no processo de dissolução eletroquímica não modificou a microdureza dentinária. Em contraste, a solução EDTA sozinha ou associada com a solução [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] reduziu a microdureza da dentina. Esta redução na microdureza dentinária pode estar diretamente relacionada à atividade do EDTA na superfície dentinária, pois a solução [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L], quando aplicada isoladamente, não causou alterações na microdureza da dentina. De acordo com os resultados aqui apresentados, estudos anteriores também observaram que a solução de EDTA causa uma redução na dureza da dentina quando usada isoladamente ou em combinação com NaOCl (DE-DEUS et al., 2006; PATIL et al., 2011; QIAN et al., 2011; ASLANTAS et al., 2014; TUNCER et al., 2015).

A microscopia eletrônica de varredura tem sido amplamente utilizada para estudar métodos para a remoção de "smear layer" (MARINS et al., 2012; CASTAGNA et al., 2013; MARTINS JUSTO et al., 2014), uma vez que permite a quantificação do número de túbulos dentinários e a avaliação da área dos túbulo dentinários, através de análises computadorizadas, eliminando análises tendenciosas (CIOCCA et al., 2007; QIAN et al., 2011). No presente estudo, a solução [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] sozinha não modificou o número de túbulos dentinários, apenas em associação com EDTA, quando comparado com o grupo irrigado com água destilada (controle) em todos os terços radiculares. Além disso, também observamos que a solução [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] sozinha não alterou a área do túbulo da dentina em comparação com os grupos irrigados com a solução EDTA sozinho ou em combinação com [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] solução. É importante ressaltar que, mesmo em pouco tempo de exposição (5 minutos), os efeitos do EDTA na área dos túbulos dentinários foram maiores do que a solução [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L], que permaneceu em contato com a dentina por 1 hora. Além

disso, no grupo irrigado apenas com a solução de EDTA, observamos erosão dos túbulos dentinários que podem estar diretamente relacionados ao aumento da área dos túbulos. De acordo com nossos resultados, um estudo prévio demonstrou que um protocolo de irrigação similar usando NaOCl e EDTA resultou em erosão da parede do canal que se caracterizou pela dissolução da dentina inter e peri-tubular, aumentando o diâmetro dos túbulos dentinários (ZHANG et al., 2010). Além disso, o tratamento com solução [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] resultou em uma área similar dos túbulos dentinários em comparação com o EDTA, fortalecendo assim o potencial uso clínico desta solução durante a dissolução eletroquímica de limas endodônticos fraturadas.

Durante o tratamento endodôntico, o processo de irrigação deve ser cuidadosamente realizado, e as soluções aplicadas devem ser restritas ao interior do canal radicular; essas soluções podem extravazar, atingir e intoxicar os tecidos periapicais (ALKAHTANI et al., 2014). Portanto, é desejável que as soluções de irrigação utilizadas durante o tratamento endodôntico demonstrem baixa citotoxicidade (YASUDA et al., 2010; ZHANG et al., 2010). O design experimental utilizado para o teste de citotoxicidade no presente estudo foi adaptado de um modelo proposto anteriormente (DE-DEUS et al., 2009), uma vez que os ensaios convencionais de citotoxicidade geralmente não refletem a especificidade do ligamento periodontal, expondo as células à concentrações supra-fisiológicas às substâncias testadas. No presente estudo, as porções apicais dos canais radiculares estavam em contato direto com o meio de cultura celular; assim, as soluções de irrigação permaneceram restritas à área do forame apical e foram utilizadas em volumes semelhantes aos protocolos clínicos. Além disso, as soluções de irrigação foram deixadas durante 1 hora dentro do canal radicular, de acordo com os protocolos que permitiram a ultrapassagem de limas endodônticos de canais radiculares simulados usando a técnica de dissolução eletroquímica (ABOUD et al., 2014; AMARAL et al., 2015; ORMIGA et al., 2015).

O ensaio MTT é amplamente utilizado para avaliar a citotoxicidade devido à sua viabilidade e reprodutibilidade (BAJRAMI et al., 2014) e é recomendado pela Organização Internacional de Normalização (ISO 10993-5) (STANDARDIZATION, 2009). Para mimetizar a população celular mais abundante no tecido periapical (SHIMIZU et al., 2012), os fibroblastos humanos foram escolhidos para o teste de citotoxicidade.

Após a dissolução completa de limas ProTaper F1 pela solução [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L], a concentração de NiTi foi determinada pela absorção atômica, aplicando a

Lei de Eletrólise de Faraday para considerar a dissolução equivalente de Ni e Ti (ABOUD et al., 2014). Esta lei estabelece a equação $m = e \cdot i \cdot t$, onde “m” é a massa da substância dissolvida em gramas, “e” é o equivalente eletroquímico, “i” é a intensidade da corrente elétrica em amperes e “t” é o tempo total em segundos. Portanto, para uma carga registrada igual a 0,16 C durante o processo, a massa equivalente de NiTi dissolvido na solução é de 0,05 mg. Considerando que o volume do canal radicular é de aproximadamente 0,1 mL (100 µL) (MITCHELL et al., 2013), a concentração atingida é de 0,5 mg / mL. De acordo com os resultados de absorção atômica do produto da dissolução de limas de NiTi usando a solução [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L], a concentração esperada de níquel estava de acordo com a concentração desejada para este estudo.

Em contato com o organismo humano, os íons de níquel podem causar respostas alérgicas e inflamatórias (WATAHA et al., 2001; OKAZAKI et al., 2008). Assim, existe a preocupação de que o método utilizado para a dissolução de limas possa liberar íons Ni que possam ser tóxicos para os tecidos perirradiculares (LEE et al., 2015). Os níveis de íons Ni gerados durante a dissolução dos fragmentos dentro do canal radicular podem resultar em uma supressão completa da proliferação celular nos tecidos perirradiculares (BARBOSA et al., 1994; SHABALOVSKAYA, 2002). Neste contexto, a solução [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] e o produto da dissolução de limas de NiTi, contendo 0,26 mg / mL de Ni, demonstraram os mesmos efeitos na viabilidade celular (Figura 22). Em contraste com o nosso estudo, Shabalovskaya (2002), demonstrou uma supressão completa da proliferação celular quando as concentrações de Ni estavam acima de 0,15 mg / mL (SHABALOVSKAYA, 2002). Uma resposta celular normal a concentrações de Ni entre 0,0004 e 0,0009 mg/mL já foi descrita e o comprometimento das funções celulares e a inibição da proliferação celular ocorrem em concentrações de Ni entre 0,004 e 0,009 mg/mL (SHABALOVSKAYA, 2002). A discrepância entre esses estudos pode ser atribuída aos distintos designs experimentais adotados, considerando que a área restrita de contato entre as soluções de irrigação e as células dentro dos poços da placa proporciona uma conclusão mais consistente.

Do mesmo modo, a solução de NaF e solução salina artificial contendo NiTi mostrou-se citotóxica para células do ligamento periodontal em comparação com saliva artificial após 2 h e 24 h (MITCHELL et al., 2013). Este resultado pode ser devido ao tempo de exposição mais longo, à concentração da amostra ou ao carácter distinto da situação clínica.

No presente estudo, foi demonstrado que a solução [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] isolada ou com NiTi apresentou uma menor citotoxicidade do que o hipoclorito de sódio (Figura 20), especialmente nas diluições de 50 e 25%. O NaOCl possui excelentes propriedades para um irrigante eficaz, como a capacidade de dissolver componentes orgânicos e tecidos necróticos e eliminar os microrganismos presentes nos biofilmes (ZEHNDER, 2006). Apesar do efeito tóxico em células eucarióticas, mesmo em baixas concentrações (LINEAWEAVER et al., 1985; SURYA et al., 2001), soluções de NaOCl de 0,5 à 5,25% são utilizadas na prática clínica (BAUMGARTNER et al., 1992; FARZANEH et al., 2017), induzindo dor pós-operatória significativamente menor do que outras soluções (FARZANEH et al., 2017). É importante ressaltar que as células cultivadas *in vitro* são consideravelmente mais sensíveis à toxicidade induzida por agentes químicos do que os tecidos periapicais (BAJRAMI et al., 2014). Sob condições *in vivo*, as soluções irrigantes são diluídas com fluídos intersticiais, e a sua concentração final diminui (LABBAN et al., 2014). Além disso, as soluções irrigantes são eliminadas por fagocitose e pelos sistemas vascular e linfático (WALL et al., 1972).

Logo, a solução [NaF 12 g / L + NaCl 1 g / L] utilizada no processo de dissolução eletroquímica, não alterou a microdureza da dentina e a área média dos túbulos dentinários. Além disso, esta solução e o seu produto contendo íons de NiTi, apresentaram níveis de citotoxicidade semelhante ao hipoclorito de sódio, viabilizando o uso clínico dessas soluções no processo de dissolução eletroquímica de limas fraturadas.

CAPÍTULO IV

1. Conclusões

- O método de dissolução eletroquímica pode ser considerado promissor, uma vez que, reduziu o volume do fragmento no interior dos canais radiculares e permitiu a ultrapassagem pelo fragmento.
- A solução de [NaF 12 g/ L + NaCl 1 g / L] utilizada na dissolução eletroquímica, não alterou a microdureza da dentina e a área média dos túbulos dentinários. Além disso, esta solução e o seu produto contendo íons de NiTi, apresentaram níveis de citotoxicidade semelhante ao hipoclorito de sódio, um irrigante amplamente utilizado. Portanto, o emprego da solução utilizada na dissolução de limas é favorável.

2. Sugestões para trabalhos futuros

- Aperfeiçoamento da ponta de platina utilizada nos testes de dissolução eletroquímica, e a confecção de um dispositivo para utilização clínica em pacientes.
- Testes do método de dissolução eletroquímica de limas endodônticas fraturadas no canal mesio-vestibular e no terço apical dos canais radiculares seriam de grande relevância. Adicionalmente, testes utilizando diferentes marcas de limas endodônticas seriam de grande importância.

Referências Bibliográficas

ABOUD, L. R. et al. Electrochemical induced dissolution of fragments of nickel-titanium endodontic files and their removal from simulated root canals. **International Endodontic Journal**, v. 47, p. 155-162, 2014.

AHLQUIST, M. et al. The effectiveness of manual and rotary techniques in the cleaning of root canals: a scanning electron microscopy study. **International Endodontic Journal**, v. 34, p. 533-537, 2001.

AKCAY, I. et al. The effect of surfactant addition to EDTA on microhardness of root dentin. **Journal of Endodontics**, v. 38, p. 704-707, 2012.

ALKAHTANI, A. et al. Cytotoxicity of QMix endodontic irrigating solution on human bone marrow mesenchymal stem cells. **BMC Oral Health**, v. 14, p. 27, 2014.

AMARAL, C. C. F. et al. Electrochemical-induced dissolution of stainless steel files. **International Endodontic Journal**, v. 48, p. 137-144, 2015.

ANKRUM, M. T. et al. K3 Endo, ProTaper, and ProFile systems: breakage and distortion in severely curved roots of molars. **Journal of Endodontics**, v. 30, p. 234-237, 2004.

ARANDA-GARCIA, A. J. et al. Effect of final irrigation protocols on microhardness and erosion of root canal dentin. **Microscopy Research and Technique**, v. 76, p. 1079-1083, 2013.

ARI, H. et al. Evaluation of the effect of endodontic irrigation solutions on the microhardness and the roughness of root canal dentin. **Journal of Endodontics**, v. 30, p. 792-795, 2004.

ARNOLD, M. et al. Infection in a complex network of apical ramifications as the cause of persistent apical periodontitis: a case report. **Journal of Endodontics**, v. 39, p. 1179-1184, 2013.

ASLANTAS, E. E. et al. Effect of EDTA, sodium hypochlorite, and chlorhexidine gluconate with or without surface modifiers on dentin microhardness. **Journal of Endodontics**, v. 40, p. 876-879, 2014.

BAJRAMI, D. et al. Cytotoxic effect of endodontic irrigants *in vitro*. **Medical Science Monitor Basic Research**, v. 20, p. 22-26, 2014.

BALDASSO, F. E. R. et al. Effect of final irrigation protocols on microhardness reduction and erosion of root canal dentin. **Brazilian Oral Research**, v. 31, p. 40, 2017.

BALLAL, N. V., et al. Evaluation of the effect of maleic acid and ethylenediaminetetraacetic acid on the microhardness and surface roughness of human root canal dentin. **Journal of Endodontics**, v. 36, p. 1385-1388, 2010.

BARATTO-FILHO, F. et al. Influence of ProTaper finishing files and sodium hypochlorite on cleaning and shaping of mandibular central incisors--a histological analysis. **Journal of Applied Oral Science**, v. 17, p. 229-233, 2009.

BARBOSA, F. O. G. **Estudo da dissolução ativa de instrumentos endodônticos de NiTi em soluções de fluoreto de sódio**, Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2010.

BARBOSA, S. V. et al. Influence of sodium hypochlorite on the permeability and structure of cervical human dentine. **International Endodontic Journal**, v. 27, p. 309-312, 1994.

BARNHART, B. D. et al. An *in vitro* evaluation of the cytotoxicity of various endodontic irrigants on human gingival fibroblasts. **Journal of Endodontics**, v. 31, p. 613-615, 2005.

BAUMGARTNER, J. C. et al. Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation. **Journal of Endodontics**, v. 18, p. 605-612, 1992.

BOUILLAGUET, S. et al. Cytotoxicity and sealing properties of four classes of endodontic sealers evaluated by succinic dehydrogenase activity and confocal laser scanning microscopy. **European Journal of Oral Sciences**, v. 112, p. 182-187, 2004.

BUKIET, F. et al. Wetting properties and critical micellar concentration of benzalkonium chloride mixed in sodium hypochlorite. **Journal of Endodontics**, v. 38, p. 1525-1529, 2012.

CALT, S. et al. Smear layer removal by EGTA. **Journal of Endodontics**, v. 26, p. 459-461, 2000.

CALT, S. et al. Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. **Journal of Endodontics**, v. 28, p. 17-19, 2002.

CAMARA, A. C. et al. Evaluation of the root dentine cutting effectiveness of the HERO 642, HERO Apical and HERO Shaper rotary systems. **Australian Endodontic Journal**, v. 34, p. 94-100, 2008.

CASTAGNA, F. et al. Effect of passive ultrasonic instrumentation as a final irrigation protocol on debris and smear layer removal--a SEM analysis. **Microscopy Research and Technique**, v. 76, p. 496-502, 2013.

CHANG, Y. C. et al. The effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine on cultured human periodontal ligament cells. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**, v. 92, p. 446-450, 2001.

CIOCCA, L. et al. A new method for quantitative analysis of dentinal tubules. **Computers in Biology and Medicine**, v. 37, p. 277-286, 2007.

COAGUILA-LLERENA, H. et al. Cleaning capacity of octenidine as root canal irrigant: A scanning electron microscopy study. **Microscopy Research and Technique**, p.1-5, 2018.

COHEN, H. **Caminhos da polpa**. Rio de Janeiro, Elsevier, 2007.

COUTINHO FILHO, T., KREBS, R.L., BERLINCK, T.C.A., GALINDO, R.G.S. Recuperação de um instrumento endodôntico quebrado usando adesivo de cianoacrilato: Relato de caso. **Brazilian Dental Journal**, v. 9, p. 57-60, 1998.

CRUZ-FILHO, A. M. et al. Effect of chelating solutions on the microhardness of root canal lumen dentin. **Journal of Endodontics**, v. 37, p. 358-362, 2011.

CRUZ FILHO, A. M. **Avaliação da ação dos quelantes EDTAC, CDTA e EGTA sobre a microdureza da dentina radicular**, Tese de doutorado, Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, 1998.

DA SILVA, L. A. et al. Scanning electron microscopic preliminary study of the efficacy of SmearClear and EDTA for smear layer removal after root canal instrumentation in permanent teeth. **Journal of Endodontics**, v. 34, p. 1541-1544, 2008.

DAYANANDA G.N, RAO SUBBA, M. Effect of strain rate on properties of superelastic NiTi thin wires. **Materials Science and Engineering: A**, v. 486, p. 96-103, 2008.

DE-DEUS, G. et al. Optimal cytocompatibility of a bioceramic nanoparticulate cement in primary human mesenchymal cells. **Journal of Endodontics**, v. 35, p. 1387-1390, 2009.

DE-DEUS, G. et al. Accumulated hard tissue debris produced during reciprocating and rotary nickel-titanium canal preparation. **Journal of Endodontics**, v. 41, p. 676-681, 2015.

DE-DEUS, G. et al. Evaluation of the effect of EDTA, EDTAC and citric acid on the microhardness of root dentine. **International Endodontic Journal**, v. 39, p. 401-407, 2006.

DE-DEUS, G. et al. Lack of causal relationship between dentinal microcracks and root canal preparation with reciprocation systems. **Journal of Endodontics**, v. 40, p. 1447-1450, 2014.

DETON, G. W. **Disinfection sterilization and preservation**. Philadelphia, Block SS, 1991.

DINESHKUMAR, M. K. et al. Effect of ethylene diamine tetra-acetic acid, MTAD, and HEBP as a final rinse on the microhardness of root dentin. **Journal of Conservative Dentistry**, v. 15, p. 170-173, 2012.

DOGAN, H. et al. Effects of chelating agents and sodium hypochlorite on mineral content of root dentin. **Journal of Endodontics**, v. 27, p. 578-580, 2001.

ELDENIZ, A. U., et al. Effect of EDTA and citric acid solutions on the microhardness and the roughness of human root canal dentin. **Journal of Endodontics**, v. 31, p. 107-110, 2005.

ELEAZER, P. D. et al. Innovative uses for hypodermic needles in endodontics. **Journal of Endodontics**, v. 25, p. 190-191, 1999.

ESTRELA, C. et al. Antimicrobial and chemical study of MTA, Portland cement, calcium hydroxide paste, Sealapex and Dycal. **Brazilian Dental Journal**, v. 11, p. 3-9, 2000.

FARZANEH, S. et al. Effect of two different concentrations of sodium hypochlorite on postoperative pain following single-visit root canal treatment: a triple-blind randomized clinical trial. **International Endodontic Journal**, v. 51, p. 2-11, 2017.

FEATHERSTONE, J. D. et al. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. **Caries Research**, v. 17, p. 385-391, 1983.

FELDMAN, G. et al. Retrieving broken endodontic instruments. **Journal of the American Dental Association**, v. 88, p. 588-591, 1974.

FERREIRA, H. L. J. GUIMARÃES, S.M.R. Avaliação radiográfica de obturações de canais radiculares. **Revista Odonto Ciência**, v. 22, p. 340-345, 2007.

FIDALGO, T. K. S., BARCELOS, R., PETRÓPOLIS, D.B., AZEVEDO, B.R., PRIMO, L.G., SILVA FILHO, F.C. Citotoxicidade de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio sobre osteoblastos humanos. **Revista Gaúcha de Odontologia**, v. 57, p. 317-321, 2009.

FORS, U. G. et al. A method for the removal of broken endodontic instruments from root canals. **Journal of Endodontics**, v. 9, p. 156-159, 1983.

GESTEIRA, M. F. M., SILVA, S.JA, ARAUJO, R.P.C, LENZI, H., ROCHA, M.C.B.S. Ação do EDTA na camada residual nos terços cervical, médio e apical no canal radicular. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 2, p. 208-218, 2003.

GOMES, B. P. et al. Chlorhexidine in endodontics. **Brazilian Dental Journal**, v. 24, p. 89-102, 2013.

GONZALES, C. et al. Effects of fluoride intake on orthodontic tooth movement and orthodontically induced root resorption. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 139, p. 196-205, 2011.

GRIGORATOS, D. et al. Effect of exposing dentine to sodium hypochlorite and calcium hydroxide on its flexural strength and elastic modulus. **International Endodontic Journal**, v. 34, p. 113-119, 2001.

GROSSMAN, L. I., MEIMAN, B.W. Solution of Pulp Tissue by Chemical Agents. **The Journal of the American Dental Association**, v. 28, p. 223-225, 1941.

GUERISOLI, D. M. et al. Evaluation of smear layer removal by EDTAC and sodium hypochlorite with ultrasonic agitation. **International Endodontic Journal**, v. 35, p. 418-421, 2002.

HAAPASALO, M. et al. Irrigation in endodontics. **Dental Clinics of North America**, v. 54, p. 291-312, 2010.

HAAPASALO, M. et al. Irrigation in endodontics. **British Dental Journal**, v. 216, p. 299-303, 2014.

HELING, I. et al. Bactericidal and cytotoxic effects of sodium hypochlorite and sodium dichloroisocyanurate solutions *in vitro*. **Journal of Endodontics**, v. 27, p. 278-280, 2001.

HODGSON, D. E., WU, M. H., BIERMANN, R. J. **Shape Memory alloys**, ASM Handbook, 1992.

HU, X. et al. Effects of irrigation solutions on dentin wettability and roughness. **Journal of Endodontics**, v. 36, p. 1064-1067, 2010.

HUANG, F. M. et al. Cytotoxicity of resin-, zinc oxide-eugenol-, and calcium hydroxide-based root canal sealers on human periodontal ligament cells and permanent V79 cells. **International Endodontic Journal**, v. 35, p. 153-158, 2002.

HULSMANN, M. Methods for removing metal obstructions from the root canal. **Endodontics and Dental Traumatology**, v. 9, p. 223-237, 1993.

HULSMANN, M. Removal of fractured instruments using a combined automated/ultrasonic technique. **Journal of Endodontics**, v. 20, p. 144-147, 1994.

IQBAL, M. K. et al. A retrospective clinical study of incidence of root canal instrument separation in an endodontics graduate program: a PennEndo database study. **Journal of Endodontics**, v. 32, p. 1048-1052, 2006.

TUNCER, A. et al. Effect of QMix irrigant on the microhardness of root canal dentine. **Australian Dental Journal**, v. 60, p. 163-168, 2015.

KERBL, F. M. et al. Physical effects of sodium hypochlorite on bone: an ex vivo study. **Journal of Endodontics**, v. 38, p. 357-359, 2012.

KOULAOUZIDOU, E. A. et al. Cytotoxicity of three resin-based root canal sealers: an *in vitro* evaluation. **Endodontics and Dental Traumatology**, v. 14, p. 182-185, 1998.

KOWALCZUCK, A. et al. Electrochemical dissolution of fractured nickel-titanium instruments in human extracted teeth. **International Endodontic Journal**, v. 50, p. 578-585, 2017.

KRELL, K. V. et al. The conservative retrieval of silver cones in difficult cases. **Journal of Endodontics**, v. 10, p. 269-273, 1984.

LABBAN, N. et al. The direct cytotoxic effects of medicaments used in endodontic regeneration on human dental pulp cells. **Dental Traumatology**, v. 30, p. 429-434, 2014.

LEE, J. J. et al. Evaluation of effect of galvanic corrosion between nickel-chromium metal and titanium on ion release and cell toxicity. **The Journal of Advanced Prosthodontics**, v. 7, p. 172-177, 2015.

LINEAWEAVER, W. et al. Cellular and bacterial toxicities of topical antimicrobials. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 75, p. 394-396, 1985.

LOPES, H. P., SIQUEIRA, ELIAS, C.N. **Endodontia Biologia e técnica**. Rio de Janeiro, Medsi, 1999.

LOPES, H. P., SIQUEIRA, J.R. **Endodontia: Biologia e Técnica**. Rio de Janeiro, Medsi – Guanabara Koogan, 2004.

LOPES, H. P., SIQUEIRA, J.R. **Endodontia: Biologia e Técnica**. Rio de Janeiro, Medsi – Guanabara Koogan, 2015.

MAI, S. et al. Differential aggressiveness of ethylenediamine tetraacetic acid in causing canal wall erosion in the presence of sodium hypochlorite. **Journal of Dentistry**, v. 38, p. 201-206, 2010.

MARINS, J. S. et al. *In vitro* genotoxicity and cytotoxicity in murine fibroblasts exposed to EDTA, NaOCl, MTAD and citric acid. **Brazilian Dental Journal**, v. 23, p. 527-533, 2012.

MARQUES, A. A. et al. Smear layer removal and chelated calcium ion quantification of three irrigating solutions. **Brazilian Dental Journal**, v. 17, p. 306-309, 2006.

MARSHALL, G. W. et al. Dentin demineralization: effects of dentin depth, pH and different acids. **Dental Materials**, v. 13, p. 338-343, 1997.

MARTINS JUSTO, A. et al. Effectiveness of final irrigant protocols for debris removal from simulated canal irregularities. **Journal of Endodontics**, v. 40, p. 2009-2014, 2014.

MASSERANN, J. "Entfernen metallischer Fragmente aus Wurzelkanalen" (Removal of metal fragments from the root canal). **Journal of the British Endodontic Society**, v. 5, p. 55-59, 1971.

MCCOMB, D. et al. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. **Journal of Endodontics**, v. 1, p. 238-242, 1975.

MCDONALD, N. J. The electronic determination of working length. **Dental Clinics of North America**, v. 36, p. 293-307, 1992.

MCGUIGAN, M. B. et al. The impact of fractured endodontic instruments on treatment outcome. **British Dental Journal**, v. 214, p. 285-289, 2013.

MELLO, I. et al. Influence of different volumes of EDTA for final rinse on smear layer removal. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**, v. 106, p. e40-43, 2008.

MELLO JR, J. E., KHERLAKIAN, D. Reintervenção endodôntica: Remoção de fragmentos metálicos do interior do canal radicular. **Revista da APCD Regional Saúde**, v. 27, p. 11-12, 2010.

MITCHELL, Q. et al. Electrochemical dissolution of nickel-titanium endodontic files induces periodontal ligament cell death. **Journal of Endodontics**, v. 39, p. 679-684, 2013.

MOHAMMADI, Z. et al. The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. **International Endodontic Journal**, v. 42, p. 288-302, 2009.

MONTEIRO, J. C. et al. A method for retrieving endodontic or atypical nonendodontic separated instruments from the root canal: a report of two cases. **Journal of Contemporary Dental Practice**, v. 15, p. 770-774, 2014.

NAGAI, O. et al. Ultrasonic removal of broken instruments in root canals. **International Endodontic Journal**, v. 19, p. 298-304, 1986.

NIELSEN, R. B. et al. Microcomputed tomography: an advanced system for detailed endodontic research. **Journal of Endodontics**, v. 21, p. 561-568, 1995.

NOGUEIRA, I. **Atividade antibacteriana e citotoxicidade do agregado de trióxido mineral associado a diferentes concentrações de clorexidina**, Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista, 2008.

NYGAARDY-OSTBY, B. Chelating in root canal therapy. Ethylenediamine tetra-acetic acid for cleaning and widening of root canals. **Odontologie Tidskrift**, v. 65, p. 3-11, 1957.

OKAZAKI, Y. et al. Metal release from stainless steel, Co–Cr–Mo–Ni–Fe and Ni–Ti alloys in vascular implants. **Corrosion Science**, v. 50, p. 3429-3438, 2008.

OKIJI, T. Modified usage of the Masserann kit for removing intracanal broken instruments. **Journal of Endodontics**, v. 29, p. 466-467, 2003.

OLIVEIRA, L. D. et al. Effects of chlorhexidine and sodium hypochlorite on the microhardness of root canal dentin. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**, v. 104, p. e125-128, 2007.

ONCAG, O. et al. Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. **International Endodontic Journal**, v. 36, p. 423-432, 2003.

ORMIGA, F. et al. Electrochemical-induced dissolution of nickel-titanium endodontic instruments with different designs. **International Endodontic Journal**, v. 48, p. 342-350, 2015.

ORMIGA, F. et al. Dissolution of nickel-titanium endodontic files via an electrochemical process: a new concept for future retrieval of fractured files in root canals. **Journal of Endodontics**, v. 36, p. 717-720, 2010.

ORMIGA, F. et al. An initial investigation of the electrochemical dissolution of fragments of nickel-titanium endodontic files. **Journal of Endodontics**, v. 37, p. 526-530, 2011.

OTSUKA, K., WAYMAN, C.M. Shape Memory Materials. **Cambridge University Press**, p. 40-44, 1998.

PASCON, F. M. et al. Effect of sodium hypochlorite on dentine mechanical properties. A review. **Journal of Dentistry**, v. 37, p. 903-908, 2009.

PASHLEY, D. et al. The relationship between dentin microhardness and tubule density. **Endodontics and Dental Traumatology**, v. 1, p. 176-179, 1985.

PATIL, C. R. et al. Effect of endodontic irrigating solutions on the microhardness and roughness of root canal dentin: an *in vitro* study. **Indian Journal of Dental Research**, v. 22, p. 22-27, 2011.

PERDIGAO, J. et al. Effect of a sodium hypochlorite gel on dentin bonding. **Dental Materials**, v. 16, p. 311-323, 2000.

PIMENTA, J. A. et al. Chitosan: effect of a new chelating agent on the microhardness of root dentin. **Brazilian Dental Journal**, v. 23, p. 212-217, 2012.

PIRES, L. B., ALBERGARIA, S.J., FAGUNDES, TOMAZINHO, F.S., TOMAZINHO, L.F. Avaliação radiográfica do desvio apical de canais radiculares curvos após o emprego da instrumentação manual e rotatória. **Revista Sul-Brasileira de Odontologia**, v. 6, p. 279-285, 2009.

PRADO, M. et al. Scanning electron microscopic investigation of the effectiveness of phosphoric acid in smear layer removal when compared with EDTA and citric acid. **Journal of Endodontics**, v. 37, p. 255-258, 2011.

PRADO, M. et al. Evaluation of different irrigation protocols concerning the formation of chemical smear layer. **Microscopy Research and Technique**, v. 76, p. 196-200, 2013.

PRUETT, J. P. et al. Cyclic fatigue testing of nickel-titanium endodontic instruments. **Journal of Endodontics**, v. 23, p. 77-85, 1997.

QIAN, W. et al. Quantitative analysis of the effect of irrigant solution sequences on dentin erosion. **Journal of Endodontics**, v. 37, p. 1437-1441, 2011.

QING, Y. et al. Cleaning efficacy and dentin micro-hardness after root canal irrigation with a strong acid electrolytic water. **Journal of Endodontics**, v. 32, p. 1102-1106, 2006.

RAHIMI, M. et al. A novel technique for the removal of fractured instruments in the apical third of curved root canals. **International Endodontic Journal**, v. 42, p. 264-270, 2009.

RICUCCI, D. et al. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. **Journal of Endodontics**, v. 36, p. 1277-1288, 2010.

ROIG-GREENE, J. L. The retrieval of foreign objects from root canals: a simple aid. **Journal of Endodontics**, v. 9, p. 394-397, 1983.

RUDDLE, C. J. Micro-endodontic nonsurgical retreatment. **Dental Clinics of North America**, v. 41, p. 429-454, 1997.

RUDDLE, C. J. Nonsurgical retreatment. **Journal of Endodontics**, v. 30, p. 827-845, 2004.

RUSSELL, A. D. et al. Antibacterial activity of chlorhexidine. **Journal of Hospital Infection**, v. 25, p. 229-238, 1993.

SAGHIRI, M. A. et al. A study of the relation between erosion and microhardness of root canal dentin. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**, v. 108, p. e29-34, 2009.

SAIDON, J. et al. Cell and tissue reactions to mineral trioxide aggregate and Portland cement. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**, v. 95, p. 483-489, 2003.

SALEH, A. A. et al. Effect of endodontic irrigation solutions on microhardness of root canal dentine. **Journal of Dentistry**, v. 27, p. 43-46, 1999.

SAUNDERS, J. G. et al. The ability of 1.23% acidulated phosphate fluoride gel to inhibit simulated endogenous erosion in tooth roots. **Australian Dental Journal**, v. 50, p. 263-266, 2005.

SAYIN, T. C. et al. Calcium loss from root canal dentin following EDTA, EGTA, EDTAC, and tetracycline-HCl treatment with or without subsequent NaOCl irrigation. **Journal of Endodontics**, v. 33, p. 581-584, 2007.

SCEIZA, M. F. et al. Cytotoxic effects of 10% citric acid and EDTA-T used as root canal irrigants: an *in vitro* analysis. **Journal of Endodontics**, v. 27, p. 741-743, 2001.

SCELZA, M. F. et al. Efficacy of final irrigation--a scanning electron microscopic evaluation. **Journal of Endodontics**, v. 26, p. 355-358, 2000.

SCELZA, M. F. et al. Effect of three different time periods of irrigation with EDTA-T, EDTA, and citric acid on smear layer removal. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**, v. 98, p. 499-503, 2004.

SCHAEFFER, L. Propriedades e Conformação Mecânica de Nitinol. **Anais da 58ª Reunião Anual da SBPC**, Florianópolis, 2006.

SCHAFER, E. et al. Comparative investigation of two rotary nickel-titanium instruments: ProTaper versus RaCe. Part 2. Cleaning effectiveness and shaping ability in severely curved root canals of extracted teeth. **International Endodontic Journal**, v. 37, p. 239-248, 2004.

SCHMALZ, G. Materials science: biological aspects. **Journal of Dental Research**, v. 81, p. 660-663, 2002.

SCHNEIDER, S. W. A comparison of canal preparations in straight and curved root canals. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, v. 32, p. 271-275, 1971.

SERPER, A. et al. The demineralizing effects of EDTA at different concentrations and pH. **Journal of Endodontics**, v. 28, p. 501-502, 2002.

SERPER, A. et al. Comparison of the cytotoxic effects and smear layer removing capacity of oxidative potential water, NaOCl and EDTA. **Journal of Oral Science**, v. 43, p. 233-238, 2001.

SHABALOVSKAYA, S. A. Surface, corrosion and biocompatibility aspects of Nitinol as an implant material. **Bio-Medical Materials and Engineering**, v. 12, p. 69-109, 2002.

SHANNON, I. L. et al. Microhardness of human dentin: baseline values and effects of fluorides. **Journal of the Missouri Dental Association**, v. 56, p. 11-18, 1976.

SHIMIZU, E. et al. Histologic observation of a human immature permanent tooth with irreversible pulpitis after revascularization/regeneration procedure. **Journal of Endodontics**, v. 38, p. 1293-1297, 2012.

SICILIANO, M. C. R. **Análise da correlação entre perfil geométrico transversal e eficiência de corte de instrumentos endodônticos rotatórios de níquel-titânio.** Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2008.

SIM, T. P. et al. Effect of sodium hypochlorite on mechanical properties of dentine and tooth surface strain. **International Endodontic Journal**, v. 34, p. 120-132, 2001.

SIQUEIRA, J. F. et al. Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal, *in vitro*. **International Endodontic Journal**, v. 30, p. 279-282, 1997.

SOUZA, R. E., SOUZA, E.A., VALERA, F.B Avaliação da remoção de debris após irrigação com EDTA 17% e EGTA1% associados ao hipoclorito de sódio 1% - Análise histológica. **Revista Odonto Ciência**, v. 20, p. 11-17, 2005.

SPANO, J. C. et al. Atomic absorption spectrometry and scanning electron microscopy evaluation of concentration of calcium ions and smear layer removal with root canal chelators. **Journal of Endodontics**, v. 35, p. 727-730, 2009.

SPIII, P. et al. The impact of instrument fracture on outcome of endodontic treatment. **Journal of Endodontics**, v. 31, p. 845-850, 2005.

SPRIGGS, K., et al. Evaluation of a new method for silver point removal. **Journal of Endodontics**, v. 16, p. 335-338, 1990.

STANDARDIZATION. International standard ISO 10993-5, Biological evaluation of medical devices. Part 5: Tests for cytotoxicity: *in vitro* methods, **Geneva**, 2009.

SURA, H. et al. Osteoblast viability and detachment following exposure to ultrasound *in vitro*. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 12, p. 997-1000, 2001.

SUTER, B. A new method for retrieving silver points and separated instruments from root canals. **Journal of Endodontics**, v. 24, p. 446-448, 1998.

TEIXEIRA, C. S. et al. The effect of application time of EDTA and NaOCl on intracanal smear layer removal: an SEM analysis. **International Endodontic Journal**, v. 38, p. 285-290, 2005.

TERAUCHI, Y. et al. Removal of separated files from root canals with a new file-removal system: Case reports. **Journal of Endodontics**, v. 32, p. 789-797, 2006.

THOMAS, J. E. et al. An *in vitro* spectroscopic analysis to determine whether para-chloroaniline is produced from mixing sodium hypochlorite and chlorhexidine. **Journal of Endodontics**, v. 36, p. 315-317, 2010.

THOMPSON, S. A. An overview of nickel-titanium alloys used in dentistry. **International Endodontic Journal**, v. 33, p. 297-310, 2000.

TORABINEJAD, M. et al. The effect of various concentrations of sodium hypochlorite on the ability of MTAD to remove the smear layer. **Journal of Endodontics**, v. 29, p. 233-239, 2003.

TROPE, B. Microbiological basis for endodontic treatment: can a maximal outcome be achieved in one visit? **Endodontic Topics**, v. 1, p. 40-53, 2002.

TROPE, M. et al. Endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: single vs. multivisit treatment. **Journal of Endodontics**, v. 25, p. 345-350, 1999.

TUNCEL, B. et al. Effect of endodontic chelating solutions on the bond strength of endodontic sealers. **Brazilian Oral Research**, v. 29, 2015.

TZANETAKIS, G. N. et al. Prevalence and management of instrument fracture in the postgraduate endodontic program at the Dental School of Athens: a five-year retrospective clinical study. **Journal of Endodontics**, v. 34, p. 675-678, 2008.

ULUSOY, O. I. et al. Effects of different irrigation solutions on root dentine microhardness, smear layer removal and erosion. **Australian Endodontic Journal**, v. 39, p. 66-72, 2013.

VOGEL, A. I. **Análise química quantitativa**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1992.

WALKER, D. D. S. A definite and dependable therapy for pulpless teeth. **The Journal of the American Dental Association**, v. 23, p. 1418-1425, 1922.

WALL, G. L. et al. Antibacterial efficacy and cytotoxicity of three endodontic drugs. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, v. 33, p. 230-241, 1972.

WATAHA, J. C. et al. Relating nickel-induced tissue inflammation to nickel release in vivo. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 58, p. 537-544, 2001.

WEISMAN, M. I. The removal of difficult silver cones. **Journal of Endodontics**, v. 9, p. 210-211, 1983.

WOLCOTT, S. et al. Separation incidence of protaper rotary instruments: a large cohort clinical evaluation. **Journal of Endodontics**, v. 32, p. 1139-1141, 2006.

YANG, Q. et al. Evaluation of Two Trephine Techniques for Removal of Fractured Rotary Nickel-titanium Instruments from Root Canals. **Journal of Endodontics**, v. 43, p. 116-120, 2017.

YASUDA, Y. et al. Effect of MTAD on the differentiation of osteoblast-like cells. **Journal of Endodontics**, v. 36, p. 260-263, 2010.

ZAPAROLLI, D. et al. Effect of sodium hypochlorite and EDTA irrigation, individually and in alternation, on dentin microhardness at the furcation area of mandibular molars. **Brazilian Dental Journal**, v. 23, p. 654-658, 2012.

ZEHNDER, M. Root canal irrigants. **Journal of Endodontics**, v. 32, p. 389-398, 2006.

ZELADA, G. et al. The effect of rotational speed and the curvature of root canals on the breakage of rotary endodontic instruments. **Journal of Endodontics**, v. 28, p. 540-542, 2002.

ZHANG, K. et al. The effect of initial irrigation with two different sodium hypochlorite concentrations on the erosion of instrumented radicular dentin. **Dental Materials**, v. 26, p. 514-523, 2010.

ZUOLO, K., MELLO JR, CARVALHO, FAGUNDES. **Reintervenção em Endodôntia**. São Paulo, Santos, 2009.

ANEXO I – Publicações

Produção Científica

- C. C. F. Amaral, F. Ormiga, L. C. Boldrini, P. G. Miranda, T. A. Mendonça, J. M. Granjeiro, J. A. C. P. Gomes. “Evaluation of the effects of the solution used for electrochemical dissolution of nickel-titanium endodontic files on the dentin structure, microhardness and cell viability” *International Endodontic Journal* (2018)- [http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/\(ISSN\)1365-2591](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/(ISSN)1365-2591). Fator de impacto: 3,015 / Qualis B1 em Engenharias II e A1 em Odontologia – Em revisão final.
- C. C. F. Amaral, F. Ormiga, J. A. C. P. Gomes. “Electrochemical-induced dissolution of nickel-titanium files in root canals” *International Endodontic Journal* (2018)- [http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/\(ISSN\)1365-2591](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/(ISSN)1365-2591). Fator de impacto: 3,015 / Qualis B1 em Engenharias II e A1 em Odontologia – Em fase de redação.

Trabalhos Apresentados em congressos

- AMARAL, C. C. F.; ORMIGA, F.; GOMES, J. A. C. P.; Avaliação dos efeitos da solução utilizada no processo de dissolução eletroquímica de fragmentos de limas em canais radiculares sobre a microdureza da dentina. 2016. 9th Latin American Congress on Artificial Organs and Biomaterials (COLAOB) Foz do Iguaçu, Paraná.
- AMARAL, C. C. F.; ORMIGA, F.; GOMES, J. A. C. P.; Estudo *in vitro* da dissolução eletroquímica de limas fraturadas em canais radiculares e de seus efeitos sobre os tecidos dentários e adjacentes ao dente. 2015. 1º Semana Metalmat/ Painel PEMM.
- AMARAL, C. C. F.; ORMIGA, F.; GOMES, J. A. C. P.; Electrochemical dissolution of stainless steel endodontic files fractured in the middle and apical

thirds of the root canal. 26th European Conference on Biomaterials, 2014, Liverpool, Reino Unido

- AMARAL, C. C. F.; ORMIGA,F. ; GOMES, J. A. C. P. ; Electrochemical induced dissolution of silver points in sodium fluoride solution. European Corrosion Congress (EUROCORR 2014), Itália (Pisa).
- AMARAL, C. C. F.; ORMIGA,F. ; GOMES, J. A. C. P.; Concepção de dispositivo para dissolução eletroquímica de fragmentos metálicos em canais radiculares. 2014. III CIMES (Congresso de Inovação em materiais e equipamentos para a saúde).
- AMARAL, C. C. F.; ORMIGA,F. ; GOMES, J. A. C. P.; Dissolução eletroquímica de fragmentos de limas de aço inoxidável em canais radiculares simulados. XXX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica, 2013, Águas de Lindóia. Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica. São Paulo: Brazilian Oral Research.

ANEXO II – Versão final do Artigo

Introduction

Endodontic file fracture may occur during the chemo-mechanical preparation of the root canal system, which may impair the complete cleaning and shaping of the root canal system. Several methods have been described for removing fractured instruments from root canals (Masserann 1971; Hulsmann 1993; Terauchi *et al.* 2006; Madarati *et al.* 2013; Yang *et al.* 2017). However, the currently proposed methods have all demonstrated limitations that may cause root canal weakening and perforation.

A new proposed method for the removal of metal fragments involves active dissolution (Ormiga *et al.* 2010). This method requires 2 electrodes immersed in solution: one acting as a cathode and the other as an anode. Contact between the fractured file and the electrode used as the anode is paramount to achieve dissolution of the fractured file. An adequate electrochemical potential difference is applied between the two electrodes, resulting in electron migration from the anode to the cathode and, consequently, in the release of metallic ions into solution. This process corresponds to the progressive dissolution of the file fragment inside the root canal. In this context, partial dissolution of nickel-titanium (NiTi) file fragments has been described inside simulated root canals after the application of a +0.7 V_(SCE) potential for 6 hours (Ormiga *et al.* 2011). Moreover, partial dissolution of K3, ProTaper and Mtwo NiTi files has been described inside simulated root canals after the application of a +0.6 V_(SCE) potential in a pH 5.0 solution of [sodium fluoride (NaF) 12 g/L + sodium chloride (NaCl) 1 g/L] for 60 min, which allowed recovery of the original canal path with a size 10 K-file (Aboud *et al.* 2014; Ormiga *et al.* 2015). Additionally, partial dissolution of stainless steel files inside simulated root canals has been demonstrated after the application of a +0.5 V_(SCE) potential in a pH 5.0 solution of [NaF 12 g/L + NaCl 175.5 g/L] for 60 min, which also permitted recovery of the original canal path with a size 10 K-file (Amaral *et al.* 2015).

Therefore, the use of NaF and NaCl solutions during the electrochemical dissolution process has shown promise for the removal of file fragments inside root canals (Ormiga *et al.* 2010; Aboud *et al.* 2014; Amaral *et al.* 2015; Ormiga *et al.* 2015). Solutions containing fluoride and chloride are extensively used in dentistry for several purposes, such as dentine structure remineralization (Gonzales *et al.* 2011) and root canal disinfection (Zehnder 2006). Therefore, the choice of solutions containing fluoride and

chloride in the electrochemical dissolution process was based highly on solutions that are commonly used in several areas of dentistry (Aboud *et al.* 2014). However, these solutions must have low reactivity with the root dentine, and low cytotoxic potential to enable their clinical application.

The structural properties of dentine, such as its microhardness, may be altered after contact with chemical irrigants (Aslantas *et al.* 2014), such as the sodium hypochlorite (NaOCl) and ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) solutions that are frequently used inside root canals, which may damage the dentine structure by changing the chemical composition and the calcium/phosphorus ratio of the dentine surface; this damage may, in turn, induce erosion and reduce the hardness of the dentine (Barbosa *et al.* 1994; Qian *et al.* 2011; Dineshkumar *et al.* 2012; Aslantas *et al.* 2014; Kara Tuncer *et al.* 2015). During the electrochemical dissolution process, the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution remains in contact with the dentine for 1 hour; thus, it is important to evaluate the possible effects of this solution on the dentine structure.

During the course of endodontic therapy, irrigation solutions may come into contact with the periapical tissues and cause complications due to their cytotoxic potential (Alkahtani *et al.* 2014). Previous studies have demonstrated that EDTA and NaOCl solutions, which are widely used during endodontic therapy, may induce cytotoxic effects and cause tissue damage (Chang *et al.* 2001; Marins *et al.* 2012; Alkahtani *et al.* 2014). Recently, NaF solutions containing NiTi were shown to have cytotoxic potential in an experimental protocol using periodontal ligament cells after an exposure period of 24 hours (Mitchell *et al.* 2013). However, the experimental protocols used by these authors are quite distinct from real clinical situations, where the area of contact between the solutions and the periodontal ligament tissue is anatomically restricted and the exposure time tends to be no longer than 2 hours. A more clinically relevant assessment is a basic requirement to ensure the safety of the electrochemical dissolution method (Ormiga *et al.* 2010).

Thus, the aim of this study was to evaluate the effects of the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution used in the electrochemical dissolution process applied to endodontic file fragments, as well as the NiTi-containing dissolution product, on dentine hardness, topography and human fibroblast viability. The primary hypothesis was that the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution presents acceptable levels of cytotoxicity and does not affect the dentine hardness or the number or average area of dentinal tubules.

Materials and methods

This study was approved by the Research Ethics Committee (protocol numbers 1.187.133 and 1.248.843). Ninety-six single-rooted human teeth were extracted for therapeutic reasons, and the roots were stored in 10% formalin until utilization. In sequence, the roots were washed under running water for 24 hours to eliminate residual formalin. The dental crowns were removed with a diamond disk. The root length was standardized at 13 mm, and the pulp tissue was removed from the root canals. After this procedure, the roots were divided according to the type of analysis.

Dentine microhardness assessment

Twenty single-rooted human teeth were used in the dentine microhardness test. Using a diamond disk, longitudinal grooves approximately 2 mm in depth were created along both the buccal and lingual segments. After the twenty roots were placed in a wax basin (Utility New Wax, Technew), the roots were split longitudinally into buccal and lingual segments using a stylet positioned in the groove and a Mead Quinelato hammer (Schobell Industrial LTDA, São Paulo, Brazil), generating forty samples. Then, the samples were embedded in acrylic resin, leaving the split surface and canal wall exposed. The split surfaces of the forty samples were ground down with carbide abrasive papers (600, 1200 and 2500 grit) under distilled water to remove any surface scratches. Dentine microhardness values were obtained in the cervical, middle and apical thirds of the root using a Vickers hardness tester (Buehler, Hiroshima, Japan) and a 300-g load for 15 seconds. One indentation was made on each third of the root on the split surface at the 0.3-mm level of the root canal wall. Then, the samples were randomly divided into 4 groups (n=10) according to the aqueous solution (in distilled water) used to treat the dentine surface: Group I: distilled water; Group II: 17% EDTA; Group III: the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution; and Group IV: 17% EDTA + the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution. All solutions remained in contact with the dentine surface for 5 minutes, as recommended by the manufacturer, except for the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution, which remained in contact with the surface for 1 hour (Aboud *et al.* 2014; Amaral *et al.* 2015; Ormiga *et al.* 2015). After the surface treatment, the microhardness values of the cervical, middle and apical thirds were measured again.

Scanning electron microscopy (SEM) imaging of the dentine

Forty single-rooted human teeth were used to analyze the dentine by SEM. The root canals were prepared using a ProTaper NiTi rotary system (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland). The cervical and middle thirds of the root canals were shaped using S1 and S2 instruments starting 5 mm short of the apical foramen. The patency length was determined using a #10 manual file (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Switzerland) inserted up to the apical of the root canal. After radiographical evaluation, the working length was determined to be 1 mm short of the patency length. Foramen standardization was performed with a NiTi flex manual file (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Switzerland), size #30 at the working length. The apical work was performed with S1, S2, F1, F2 and F3 instruments at the working length. All root canals were irrigated with 5.25% NaOCl during the chemo-mechanical preparation. After root canal shaping, the samples were randomly divided into 4 groups (n=10) according to the final irrigation protocol: Group V: distilled water; Group VI: distilled water + 17% EDTA; Group VII: distilled water + [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L]; and Group VIII: distilled water + 17% EDTA + distilled water + [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L].

All solutions remained inside the root canals for 5 minutes, according to the manufacturer's guidelines. In Groups VII and VIII, the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution remained inside the canal for 1 hour, with renewal every 10 minutes, as this was the time required for the electrochemical dissolution process of the endodontic file fragments according to previous reports (Aboud *et al.* 2014; Amaral *et al.* 2015; Ormiga *et al.* 2015). At the end of the irrigation protocol, the root canals were washed with distilled water and dried with ProTaper F3 sterile absorbent paper points (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Switzerland). Then, the roots were split longitudinally into buccal and lingual segments, as previously described in the microhardness assessment section. The samples were coated with gold and imaged for analysis by SEM (JSM 6460 LV; JEOL, Tokyo, Japan) at a magnification of 2000x in the cervical, middle and apical thirds of the root canals. For each sample (n=10), at least 1 randomly chosen microscopic field was selected from each third of the root canal. The area and number of dentinal tubules were determined using Image-Pro Plus 6.0 software (Media Cybernetics, Inc., Bethesda, MD, USA). The sequence of the analysis used in this process was as follows: calibrate the image; convert 16-bit images; obtain image histograms; linearize the histograms; segment each image from its histogram; and count the tubules. Measurements of the average area of dentinal tubules of each image were obtained in μm^2 .

Cytotoxicity assay

Preparation of solutions

Two different experimental solutions were used in the cytotoxicity assay: the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution and the same solution containing the product of the dissolution of NiTi files: [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L + NiTi]. To prepare the dissolution product, we used the tips of three ProTaper F1 files (13 mm), corresponding to a mass of 50 mg of NiTi.

A three-electrode electrochemical cell was used, containing a saturated calomel electrode as the reference, a platinum electrode as the counter electrode and a NiTi F1 ProTaper file as the working electrode. The electrodes were immersed in 100 mL of the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution and connected to a computer-controlled AutoLab potentiostat (Metrohm, Herisau, Switzerland). Instrument immersion was limited to 13.0 mm from the tip of the file. A constant anodic potential of +0.7 V_(SCE) was applied, as previously described (Ormiga *et al.* 2011), until the total dissolution of the immersed portion of the ProTaper F1 NiTi file occurred while the potentiostat registered the anodic current. The assay was performed in triplicate. For each assay, three files were dissolved sequentially in the same solution; the resulting solution was then stored in two 50-mL conical Falcon tubes for further nickel (Ni) quantification by atomic absorption in the acetylene gas phase at 232 nm, with a lower and upper limit of detection for Ni of 0.06 and 0.21 mg/L, respectively.

Test system preparation

Thirty-six single-rooted human teeth were prepared using a ProTaper NiTi rotary system (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland), as previously described in the SEM section. The smear layer of the root canals was removed using 17% EDTA (Biodinâmica Química & Farmacêutica LTDA, Paraná, Brazil) for 5 minutes. The root canals were washed with distilled water and dried with ProTaper F3 sterile absorbent paper points (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Switzerland). After the chemomechanical preparation of the root canals, each dental root was placed inside a 1.5-mL polypropylene microtube cut at 1 mm from the distal portion such that 3 mm of the root could protrude from the tube. A rubber O-ring (Ø 0.5 cm) was inserted into the upper end of each plastic microtube, as previously described (De-Deus *et al.* 2009) and presented in Figure 1. The microtubes containing the teeth with the inserted rubber O-rings, generated thirty-six samples, which

were defined as experimental sets (test system). The thirty-six experimental sets were individually sterilized in an autoclave at 135°C for 35 minutes. Twelve experimental sets were used per assay that were performed in triplicate.

Extract preparation

For each experiment, twelve sets were randomly placed in 48-well plate (Falcon, Franklin Lakes, NJ) containing 800 µL of Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) (D5523- Sigma-Aldrich, Merck, Darmstadt, Germany) plus 10% fetal bovine serum (FBS) (12657029, Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA). Only 3 mm of the root canal was in contact with the cell culture medium (Figure 1). The root canal of each sample was filled with 100 µL of the following solutions: DMEM + 10% FBS; 5.25% NaOCl; the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution; and the solution with the dissolution product [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L + NiTi], which remained inside the root canal for 1 hour. The solutions were then removed from the root canal using an endodontic suction apparatus (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Switzerland). The canals were then washed with distilled water and dried with ProTaper F3 sterile absorbent paper points (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Switzerland). After this procedure, the teeth were removed from the wells and stored individually. The extracts (DMEM + diffused solution) were collected from the wells using a micropipette and transferred into labeled plastic microtubes. These were stored in an incubator at 37°C for 24 hours. All procedures were performed in three independent experiments in triplicate.

Cell culture

Human skin primary fibroblasts were kindly provided by the Cell Bank of Rio de Janeiro, Brazil, and used for cytotoxicity assays. Briefly, prepuce skin was collected from patients aged 1 to 13 years old who underwent scheduled surgery for postectomy after obtaining consent from the responsible donor. This research was approved by the Research Ethics Committee (protocol number 46799215.1.0000.5283). Initially, the skin was placed a Petri dish (Nunc, Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA), where it was cut into fragments smaller than approximately 0.5 x 0.5 cm². The fragments were subsequently subjected to enzymatic digestion with collagenase IA (C9891, Sigma-Aldrich, Merck, Darmstadt, Germany) diluted in DMEM under constant stirring at 37°C for 3 hours. Then, collagenase activity was inhibited with DMEM supplemented with 10% FBS. The obtained cell suspension was homogenized and filtered through a Cell

Strainer (Z742101, Sigma-Aldrich, Merck) with 100-mm-diameter pores and then centrifuged at 700 rcf for 15 minutes. Cells were seeded at a density of 6×10^6 cells/cm² and cultured in a humidified incubator at 37°C in 5% CO₂ in DMEM supplemented with 10% FBS, ciprofloxacin (10 mg/mL) (17850, Sigma-Aldrich, Merck) and amphotericin B (2.5 mg/mL) (Y0000005, Sigma-Aldrich, Merck). The cells were expanded, cryopreserved and evaluated for the presence of microbiological contaminants using microbiological, PCR (LookOut® Mycoplasma PCR Detection Kit, Sigma-Aldrich, Merck) and bioluminescence (MycoAlert Mycoplasma Detection Kit, Lonza, Basel, Switzerland) culture tests. Only cells free of bacteria (including mycoplasma) and fungi were used. Cell morphology was assessed by optical microscopy (ZEISS, Germany).

MTT cell viability assay

Cells in 96-well plates (Nunc, Thermo Fisher Scientific) were exposed to DMEM + 10% FBS (negative control), 1% Triton X-100 (Sigma-Aldrich, Merck) (positive control) and extracts obtained as described above in the extract preparation section: DMEM + 10% FBS; 5.25% NaOCl; the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution; and the solution with the dissolution product [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L + NiTi] at different extract volume concentrations (100% to 12.5% in DMEM + 10% FBS). The plates were maintained for 24 hours at 37°C in 5% CO₂, according to guidelines of the International Standard Organization (ISO 10993-5) (Standardization 2009). Then, the cells were washed with phosphate-buffered saline (PBS) and incubated for 3 hours with PBS containing 0.5 mg/mL of MTT (M5655, Sigma-Aldrich, Merck). Non-reacted dye was removed by aspiration, and the quantity of dark-blue formazan crystals, which were solubilized by the addition of 0.2% sodium dodecyl sulfate (L3771, Sigma-Aldrich, Merck), were measured by recording changes in absorbance at 570 nm using a microplate reader (Synergy™ H4, Biotek). Relative cell viability [%] compared with control wells containing cell culture medium without extract was calculated as $[A570]_{\text{test}}/[A570]_{\text{control}} \times 100$. All experiments were repeated three times in triplicate.

Statistical analysis

The results are expressed as the mean \pm standard deviation for each group, and paired t-tests were used to compare pre- and post-treatment microhardness in each root third between the groups. One-way ANOVA followed by Tukey's test was used to compare differences in the dentine microhardness variations, as well as the number and

area of dentinal tubules in each root third between the experimental groups. As the MTT assay data did not pass the D'Agostino-Pearson normality test, the nonparametric Kruskal-Wallis test and Dunn's post-test were applied. Differences with p values less than 0.05 (95% confidence interval) were considered significant. All calculations were performed using a commercially available statistical software package (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA).

Results

Table 1 shows the results of the dentine microhardness analysis before and after the treatments, as well as the microhardness variations after treatment (Δ HV). In Groups I and III, there were no significant differences in the dentine microhardness of the root canal before and after the treatments, except in the cervical third of Group I, which showed an increase in dentine microhardness after the treatments ($p < 0.05$). After the treatments, Groups II and IV showed a reduction in dentine microhardness in all three root thirds ($p < 0.05$). Comparison of Groups II and IV showed no differences in Δ HV in any root third, in contrast to the comparisons of Groups I and II and I and IV ($p < 0.05$). Significant differences in Δ HV were found between Groups I and III only in the middle third, not in the cervical or apical third of the roots ($p < 0.05$).

Figure 2 shows representative SEM images of each third of the root canal for all experimental groups. Dentinal tubules were more prominent in Groups II and IV than in Groups I and III, in which the canal walls appeared to be partially covered by several fragments. In all groups, the apical third showed less prominent dentinal tubules than the cervical and middle thirds. Furthermore, dentinal tubules erosion was observed in Group II.

Table 2 shows the effect of each solution tested on the number and average area of dentinal tubules. Considering each evaluated root third (cervical, middle and apical), Group IV showed a greater number of dentinal tubules than Group I ($p < 0.05$), with no effects seen for the other solutions. Similarly, Group IV showed a greater average area of dentinal tubules than Group I in all thirds evaluated. However, in the cervical and middle thirds, the average area of dentinal tubules in Group II was greater than in Group I ($p < 0.05$). Group III did not show a difference in the average dentinal tubule area compared with Group I in any root third.

The total dissolution of three ProTaper F1 NiTi files in 100 mL of the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution under a constant anodic potential of +0.7 V_(SCE) yielded 0.26 mg of Ni/mL.

In the cytotoxicity assay, the DMEM + 10% FBS and 1% Triton X-100 treatments, the respective positive and negative control groups, were effective (Figure 3). Pure extract from teeth exposed to DMEM + 10% FBS did not promote cytotoxicity. All test solutions were nontoxic at a 12.5% dilution, but 5.25% NaOCl at a 25% dilution killed 80% of cells; in contrast, the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] and [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L + NiTi] solutions killed approximately 20% of cells at the same dilution. At a 50% dilution, almost all cells died when exposed to NaOCl; on the other hand, the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] and [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L + NiTi] solutions killed approximately 60% and 80% of the cells, respectively. Pure extracts of NaOCl, [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] and [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L + NiTi] all killed more 90% of the cells.

Discussion

Instrument fracture during root canal preparation is a known complication in endodontics (Solomonov *et al.* 2014) that potentially impacts the success of endodontic treatment (Parashos *et al.* 2006; Simon *et al.* 2008; McGuigan *et al.* 2013). Despite the initial dilemma concerning the retrieval, bypass or entombment of fractured instruments, the retrieval process can ultimately be performed in many ways, including by mechanical methods (McGuigan *et al.* 2013; Monteiro *et al.* 2014). However, certain limitations, such as the weakening and perforation of the root canal, have prompted the development of alternative chemical methods (Amaral *et al.* 2015; Ormiga *et al.* 2015).

The [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution did not modify the dentine microhardness or the average dentinal tubule area. In addition, the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution and that containing the product of the dissolution process, NiTi, demonstrated lower cytotoxicity than NaOCl, which is commonly used in dental clinics (Zehnder 2006).

NaOCl may cause relevant changes in dentine collagen fibers, which result in tooth weakening and reduced dentine adhesion forces (Perdigao *et al.* 2000). In addition, the chelating agents used in the root canal may react with calcium ions, altering the dentine microstructure and the calcium/phosphorus ratio (Barbosa *et al.* 1994; Dineshkumar *et al.* 2012), leading to reduced dentine hardness (Qian *et al.* 2011; Aslantas *et al.* 2014; Tuncel *et al.* 2015). Reduced dentin hardness can threaten the

adhesion and sealing ability of different materials used in dental practice (Pascon *et al.* 2009).

Dentine microhardness declines from the superficial to deep regions of root dentine (Saleh *et al.* 1999). This change may occur because there are more widely opened dentinal tubules near the pulp that offer reduced resistance to the microhardness indenter (Saleh *et al.* 1999). Thus, it has been proposed that dentine microhardness is inversely correlated with tubular density (Pashley *et al.* 1985). Based on these variations, the present study used indentations in the cervical, middle and apical thirds of the root canal to measure dentine microhardness using the Vicker's microhardness test (Kara Tuncer *et al.* 2015); these indentations were made 0.3 mm from the surface of the canal wall. In addition to the tubular density, the time of interaction with the irrigation solution should be considered as another factor that may influence the dentine microhardness (Pashley *et al.* 1985).

Regarding the teeth storage solution, formalin solutions are widely used to clean and sterilize extracted teeth (Pagniano *et al.* 1985; De-Deus *et al.* 2006; Lee *et al.* 2007; Attam *et al.* 2009). Formalin at a concentration of 10% has been described as the only disinfectant solution that can penetrate the pulp chamber in what would be considered an effective antimicrobial concentration (Tate *et al.* 1991). In fact, there have been concerns regarding the effects of sample storage in formalin on the properties of dentin. However, it has been demonstrated that sterilization with formalin alone has no significant effect on dentin bond strength (Lee *et al.* 2007).

In the present study, the EDTA solution alone or associated with the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution reduced the dentine microhardness. This reduction in dentine microhardness may be directly related to the EDTA activity on the dentine surface, as the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution, when applied alone, did not cause any changes in dentine microhardness. In agreement with these results, previous studies have observed that EDTA solution causes a reduction in dentine hardness when used alone or in combination with NaOCl (De-Deus *et al.* 2006; Patil *et al.* 2011; Qian *et al.* 2011; Aslantas *et al.* 2014; Kara Tuncer *et al.* 2015).

SEM has been widely used to study methods for smear layer removal (Marins *et al.* 2012; Castagna *et al.* 2013; Martins Justo *et al.* 2014) because it allows quantification of the number of dentinal tubules and assessment of the dentinal tubule area through software analysis tools, thus eliminating biased analysis (Ciocca *et al.* 2007; Qian *et al.* 2011). Here, the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution alone did not modify the number of

dentinal tubules and only did so when in association with EDTA compared with the distilled water-irrigated group (control) in all root thirds. Furthermore, we observed that the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution alone did not alter the dentinal tubule area compared with the groups irrigated with EDTA alone or in combination with the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution. It is important to highlight that even with a short exposure time (5 minutes), the effects of EDTA on the dentinal tubule area were greater than that of the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution alone, although this solution was in contact with the dentine for 1 hour. Moreover, in the group irrigated with EDTA alone, we observed dentinal tubules erosion that may be directly related to the increased tubule area. In agreement with our results, a previous study demonstrated that a similar irrigation protocol using NaOCl and EDTA resulted in canal wall erosion characterized by dissolution of the inter- and peri-tubular dentine, increasing the diameter of the dentinal tubules (Zhang *et al.* 2010). Moreover, the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution treatment resulted in a dentinal tubules area similar to that of the EDTA treatment, thus strengthening the potential clinical use of this solution during the electrochemical dissolution of endodontic file fragments.

The endodontic irrigation solutions should be restricted to the interior of the root canal, these solutions may leak, reaching and causing toxic effects in the periapical tissues (Alkahtani *et al.* 2014). Therefore, it is desirable for irrigation solutions used during endodontic treatments to demonstrate low cytotoxicity (Zhang *et al.* 2003; Yasuda *et al.* 2010). The experimental design utilized for the cytotoxicity assay in the present study was adapted from a previously proposed model (De-Deus *et al.* 2009) because conventional cytotoxicity assays often do not reflect the specificity of the pulp-periodontal ligament system, exposing the cells to unrealistic concentrations of test substances. In the present study, the apical portions of the root canals were in direct contact with the cell culture medium; thus, the irrigation solutions remained restricted to the apical foramen area and were used in volumes similar to those of clinical protocols. In addition, the irrigation solutions were left for 1 hour inside the root canal, in accordance with clinical protocols (Grigoratos *et al.* 2001; Sim *et al.* 2001) that allow the retrieval of endodontic file fragments from simulated root canals using the electrochemical dissolution technique (Aboud *et al.* 2014; Amaral *et al.* 2015; Ormiga *et al.* 2015).

After the complete dissolution of ProTaper F1 files by the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution, the NiTi concentration was determined by atomic absorption, applying Faraday's Law of Electrolysis to consider the equivalent dissolution of Ni and Ti (Aboud

et al. 2014). This law establishes the equation $m = e \times i \times t$, where m is the mass of the substance dissolved in grams, e is the electro-electronic equivalent, i is the electrical current intensity in Amperes, and t is the total time in seconds. Therefore, for a registered charge equal to 0.16 C during the process, the equivalent mass of dissolved NiTi in the solution is 0.05 mg. Considering that the volume of the root canal is approximately 0.1 mL (100 μ L) (Mitchell *et al.* 2013), the concentration reached is 0.5 mg/mL. According to the atomic absorption results of the product of the dissolution of NiTi files using the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution, the expected Ni concentration was in agreement with the concentration desired for this study.

Upon contact with the human organism, Ni ions may cause allergic and inflammatory responses (Wataha *et al.* 2001; Okazaki *et al.* 2008). Thus, there is a concern that the method used for the dissolution of file fragments may release Ni ions that may be toxic to the periradicular tissues (Lee *et al.* 2015). The levels of Ni ions generated during the dissolution of file fragments inside the root canal could result in the complete suppression of cell proliferation in periradicular tissues (Barbosa *et al.* 1994; Shabalovskaya 2002). In this context, the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] and [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L + NiTi] solutions, with the latter containing 0.26 mg/mL of Ni, demonstrated the same effects on cell viability (Figure 3). In contrast with our study, complete suppression of cell proliferation has been demonstrated with Ni concentrations above 0.15 mg/mL (Shabalovskaya 2002). A normal cellular response at Ni concentrations between 0.0004 and 0.0009 mg/mL has previously been described, and cellular function impairment and cell proliferation inhibition occurs at Ni concentrations between 0.004 and 0.009 mg/mL (Shabalovskaya 2002). The discrepancy between these studies could be ascribed to the distinct experimental designs adopted, considering that the restricted area of contact between the irrigation solutions and the cells within the plate wells provides a more consistent conclusion.

Similarly, NaF solution and artificial saline containing NiTi haven been shown to be cytotoxic to periodontal ligament cells compared with artificial saliva after 2 and 24 hours (Mitchell *et al.* 2013). This outcome could be due to the longer exposure time, sample concentration, or the distinctiveness of the clinical situation.

In our study, we demonstrated that the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution alone or with NiTi had lower cytotoxicity than NaOCl (Figure 3), particularly at dilutions of 50 and 25%. NaOCl has excellent properties for an effective irrigant, such as the ability to dissolve organic components and necrotic tissues and eliminate microorganisms present

in biofilms (Zehnder 2006). Despite the toxic effect on eukaryotic cells, even at low concentrations (Lineaweaver *et al.* 1985; Sura *et al.* 2001), 0.5 to 5.25% NaOCl solutions have been described for use in clinical practice (Baumgartner *et al.* 1992; Farzaneh *et al.* 2017), demonstrating significantly lower postoperative pain than other solutions (Farzaneh *et al.* 2017). It is important to highlight that cultured cells are considerably more sensitive to toxicity induced by chemical agents than periapical tissues (Bajrami *et al.* 2014). Under *in vivo* conditions, the irrigation solutions are diluted with interstitial fluids, and their concentration decreases (Labban *et al.* 2014). In addition, the irrigation solutions are eliminated by phagocytosis and the vascular and lymphatic systems (Wall *et al.* 1972).

Conclusion

Taken together, these results support the conclusion that the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution used in the electrochemical dissolution process does not alter dentine microhardness and does not damage dentine structure. This solution also demonstrates lower cytotoxicity than NaOCl, confirming the initial hypothesis and supporting the potential clinical use of the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution to remove endodontic file fragments by electrochemical dissolution. Further studies are important to evaluate the effects of the solution and its products *in vivo*.

References

- About LR, Ormiga F, Gomes JA (2014) Electrochemical induced dissolution of fragments of nickel-titanium endodontic files and their removal from simulated root canals. *International Endodontic Journal* **47**, 155-62.
- Alkahtani A, Alkahtany SM, Mahmood A, Elsafadi MA, Aldahmash AM, Anil S (2014) Cytotoxicity of QMix endodontic irrigating solution on human bone marrow mesenchymal stem cells. *BMC Oral Health* **14**, 27.
- Amaral CC, Ormiga F, Gomes JA (2015) Electrochemical-induced dissolution of stainless steel files. *International Endodontic Journal* **48**, 137-44.
- Arnold M, Ricucci D, Siqueira JF, Jr. (2013) Infection in a complex network of apical ramifications as the cause of persistent apical periodontitis: a case report. *Journal of Endodontics* **39**, 1179-84.
- Aslantas EE, Buzoglu HD, Altundasar E, Serper A (2014) Effect of EDTA, sodium hypochlorite, and chlorhexidine gluconate with or without surface modifiers on dentin microhardness. *Journal of Endodontics* **40**, 876-9.
- Attam K, Talwar S, Yadav S, Miglani S (2009) Comparative analysis of the effect of autoclaving and 10% formalin storage on extracted teeth: A microleakage evaluation. *J Conserv Dent* **12**, 26-30.
- Bajrami D, Hoxha V, Gorduysus O, Muftuoglu S, Zeybek ND, Kucukkaya S (2014) Cytotoxic effect of endodontic irrigants in vitro. *Med Sci Monit Basic Res* **20**, 22-6.
- Barbosa SV, Safavi KE, Spangberg SW (1994) Influence of sodium hypochlorite on the permeability and structure of cervical human dentine. *International Endodontic Journal* **27**, 309-12.
- Baumgartner JC, Cuenin PR (1992) Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation. *Journal of Endodontics* **18**, 605-12.
- Castagna F, Rizzon P, da Rosa RA *et al.* (2013) Effect of passive ultrasonic instrumentation as a final irrigation protocol on debris and smear layer removal--a SEM analysis. *Microscopy Research and Technique* **76**, 496-502.
- Chang YC, Huang FM, Tai KW, Chou MY (2001) The effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine on cultured human periodontal ligament cells. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics* **92**, 446-50.
- Ciocca L, Gallina I, Navacchia E, Baldissara P, Scotti R (2007) A new method for quantitative analysis of dentinal tubules. *Computers in Biology and Medicine* **37**, 277-86.
- da Silva LA, Sanguino AC, Rocha CT, Leonardo MR, Silva RA (2008) Scanning electron microscopic preliminary study of the efficacy of SmearClear and EDTA for smear layer removal after root canal instrumentation in permanent teeth. *Journal of Endodontics* **34**, 1541-4.
- De-Deus G, Canabarro A, Alves G, Linhares A, Senne MI, Granjeiro JM (2009) Optimal cytocompatibility of a bioceramic nanoparticulate cement in primary human mesenchymal cells. *Journal of Endodontics* **35**, 1387-90.
- De-Deus G, Paciornik S, Mauricio MH (2006) Evaluation of the effect of EDTA, EDTAC and citric acid on the microhardness of root dentine. *International Endodontic Journal* **39**, 401-7.
- Dineshkumar MK, Vinothkumar TS, Arathi G, Shanthisree P, Kandaswamy D (2012) Effect of ethylene diamine tetra-acetic acid, MTAD, and HEBP as a final rinse on the microhardness of root dentin. *J Conserv Dent* **15**, 170-3.

- Do Prado M, Simao RA, Gomes BP (2013) Evaluation of different irrigation protocols concerning the formation of chemical smear layer. *Microscopy Research and Technique* **76**, 196-200.
- Farzaneh S, Parirokh M, Nakhaee N, Abbott PV (2017) Effect of two different concentrations of sodium hypochlorite on postoperative pain following single-visit root canal treatment: a triple-blind randomized clinical trial.
- Gonzales C, Hotokezaka H, Karadeniz EI *et al.* (2011) Effects of fluoride intake on orthodontic tooth movement and orthodontically induced root resorption. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* **139**, 196-205.
- Grigoratos D, Knowles J, Ng YL, Gulabivala K (2001) Effect of exposing dentine to sodium hypochlorite and calcium hydroxide on its flexural strength and elastic modulus. *International Endodontic Journal* **34**, 113-9.
- Hulsmann M (1993) Methods for removing metal obstructions from the root canal. *Endodontics and Dental Traumatology* **9**, 223-37.
- Kara Tuncer A, Tuncer S, Siso SH (2015) Effect of QMix irrigant on the microhardness of root canal dentine. *Australian Dental Journal* **60**, 163-8.
- Labban N, Yassen GH, Windsor LJ, Platt JA (2014) The direct cytotoxic effects of medicaments used in endodontic regeneration on human dental pulp cells. *Dental Traumatology* **30**, 429-34.
- Lee J-J, Song K-Y, Ahn S-G, Choi J-Y, Seo J-M, Park J-M (2015) Evaluation of effect of galvanic corrosion between nickel-chromium metal and titanium on ion release and cell toxicity. *The Journal of Advanced Prosthodontics* **7**, 172-7.
- Lee JJ, Nettey-Marbell A, Cook A, Jr., Pimenta LA, Leonard R, Ritter AV (2007) Using extracted teeth for research: the effect of storage medium and sterilization on dentin bond strengths. *Journal of the American Dental Association* **138**, 1599-603.
- Lineaweaver W, McMorris S, Soucy D, Howard R (1985) Cellular and bacterial toxicities of topical antimicrobials. *Plastic and Reconstructive Surgery* **75**, 394-6.
- Madarati AA, Hunter MJ, Dummer PM (2013) Management of intracanal separated instruments. *Journal of Endodontics* **39**, 569-81.
- Marins JS, Sassone LM, Fidel SR, Ribeiro DA (2012) In vitro genotoxicity and cytotoxicity in murine fibroblasts exposed to EDTA, NaOCl, MTAD and citric acid. *Brazilian Dental Journal* **23**, 527-33.
- Martins Justo A, Abreu da Rosa R, Santini MF *et al.* (2014) Effectiveness of final irrigant protocols for debris removal from simulated canal irregularities. *Journal of Endodontics* **40**, 2009-14.
- Masserann J (1971) "Entfernen metallischer Fragmente aus Wurzelkanalen" (Removal of metal fragments from the root canal). *Journal of the British Endodontic Society* **5**, 55-9.
- McGuigan MB, Louca C, Duncan HF (2013) Clinical decision-making after endodontic instrument fracture. *British Dental Journal* **214**, 395-400.
- McGuigan MB, Louca C, Duncan HF (2013) The impact of fractured endodontic instruments on treatment outcome. *British Dental Journal* **214**, 285-9.
- Mello I, Robazza CR, Antoniazzi JH, Coil J (2008) Influence of different volumes of EDTA for final rinse on smear layer removal. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics* **106**, e40-3.
- Mitchell Q, Jeansonne BG, Stoute D, Lallier TE (2013) Electrochemical dissolution of nickel-titanium endodontic files induces periodontal ligament cell death. *Journal of Endodontics* **39**, 679-84.

- Monteiro JC, Kuga MC, Dantas AA *et al.* (2014) A method for retrieving endodontic or atypical nonendodontic separated instruments from the root canal: a report of two cases. *Journal of Contemporary Dental Practice* **15**, 770-4.
- Okazaki Y, Gotoh E (2008) Metal release from stainless steel, Co–Cr–Mo–Ni–Fe and Ni–Ti alloys in vascular implants. *Corrosion Science* **50**, 3429-38.
- Ormiga F, Aboud LR, Gomes JA (2015) Electrochemical-induced dissolution of nickel-titanium endodontic instruments with different designs. *International Endodontic Journal* **48**, 342-50.
- Ormiga F, da Cunha Ponciano Gomes JA, de Araujo MC (2010) Dissolution of nickel-titanium endodontic files via an electrochemical process: a new concept for future retrieval of fractured files in root canals. *Journal of Endodontics* **36**, 717-20.
- Ormiga F, da Cunha Ponciano Gomes JA, de Araujo MC, Barbosa AO (2011) An initial investigation of the electrochemical dissolution of fragments of nickel-titanium endodontic files. *Journal of Endodontics* **37**, 526-30.
- Pagniano RP, Scheid RC, Rosen S, Beck FM (1985) Airborne microorganisms collected in a preclinical dental laboratory. *Journal of Dental Education* **49**, 653-5.
- Parashos P, Messer HH (2006) Rotary NiTi instrument fracture and its consequences. *Journal of Endodontics* **32**, 1031-43.
- Pascon FM, Kantovitz KR, Sacramento PA, Nobre-dos-Santos M, Puppin-Rontani RM (2009) Effect of sodium hypochlorite on dentine mechanical properties. A review. *Journal of Dentistry* **37**, 903-8.
- Pashley D, Okabe A, Parham P (1985) The relationship between dentin microhardness and tubule density. *Endodontics and Dental Traumatology* **1**, 176-9.
- Patil CR, Uppin V (2011) Effect of endodontic irrigating solutions on the microhardness and roughness of root canal dentin: an in vitro study. *Indian Journal of Dental Research* **22**, 22-7.
- Perdigao J, Lopes M, Geraldeli S, Lopes GC, Garcia-Godoy F (2000) Effect of a sodium hypochlorite gel on dentin bonding. *Dental Materials* **16**, 311-23.
- Qian W, Shen Y, Haapasalo M (2011) Quantitative analysis of the effect of irrigant solution sequences on dentin erosion. *Journal of Endodontics* **37**, 1437-41.
- Ricucci D, Siqueira JF, Jr. (2010) Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *Journal of Endodontics* **36**, 1277-88.
- Saber Sel D, Hashem AA (2011) Efficacy of different final irrigation activation techniques on smear layer removal. *Journal of Endodontics* **37**, 1272-5.
- Saleh AA, Ettman WM (1999) Effect of endodontic irrigation solutions on microhardness of root canal dentine. *J Dent* **27**, 43-6.
- Sayin TC, Serper A, Cehreli ZC, Kalayci S (2007) Calcium loss from root canal dentin following EDTA, EGTA, EDTAC, and tetracycline-HCl treatment with or without subsequent NaOCl irrigation. *Journal of Endodontics* **33**, 581-4.
- Shabalovskaya SA (2002) Surface, corrosion and biocompatibility aspects of Nitinol as an implant material. *Bio-Medical Materials and Engineering* **12**, 69-109.
- Shimizu E, Jong G, Partridge N, Rosenberg PA, Lin LM (2012) Histologic observation of a human immature permanent tooth with irreversible pulpitis after revascularization/regeneration procedure. *Journal of Endodontics* **38**, 1293-7.
- Sim TP, Knowles JC, Ng YL, Shelton J, Gulabivala K (2001) Effect of sodium hypochlorite on mechanical properties of dentine and tooth surface strain. *International Endodontic Journal* **34**, 120-32.

- Simon S, Machtou P, Tomson P, Adams N, Lumley P (2008) Influence of fractured instruments on the success rate of endodontic treatment. *Dental Update* **35**, 172-4, 6, 8-9.
- Solomonov M, Webber M, Keinan D (2014) Fractured endodontic instrument: a clinical dilemma. Retrieve, bypass or entomb? *New York State Dental Journal* **80**, 50-2.
- Standardization IOF (2009) International standard ISO 10993-5, Biological evaluation of medical devices. Part 5: Tests for cytotoxicity: in vitro methods. Geneva (SH): 2009
- Sura H, Shelton RM, Walmsley AD (2001) Osteoblast viability and detachment following exposure to ultrasound in vitro. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **12**, 997-1000.
- Tate WH, White RR (1991) Disinfection of human teeth for educational purposes. *Journal of Dental Education* **55**, 583-5.
- Terauchi Y, O'Leary L, Suda H (2006) Removal of separated files from root canals with a new file-removal system: Case reports. *Journal of Endodontics* **32**, 789-97.
- Tuncel B, Nagas E, Cehreli Z, Uyanik O, Vallittu P, Lassila L (2015) Effect of endodontic chelating solutions on the bond strength of endodontic sealers. *Braz Oral Res* **29**.
- Wall GL, Dowson J, Shipman C, Jr. (1972) Antibacterial efficacy and cytotoxicity of three endodontic drugs. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* **33**, 230-41.
- Wataha JC, O'Dell NL, Singh BB, Ghazi M, Whitford GM, Lockwood PE (2001) Relating nickel-induced tissue inflammation to nickel release in vivo. *Journal of Biomedical Materials Research* **58**, 537-44.
- Yang Q, Shen Y, Huang D, Zhou X, Gao Y, Haapasalo M (2017) Evaluation of Two Trepine Techniques for Removal of Fractured Rotary Nickel-titanium Instruments from Root Canals. *Journal of Endodontics* **43**, 116-20.
- Yasuda Y, Tatematsu Y, Fujii S *et al.* (2010) Effect of MTAD on the differentiation of osteoblast-like cells. *Journal of Endodontics* **36**, 260-3.
- Zehnder M (2006) Root canal irrigants. *Journal of Endodontics* **32**, 389-98.
- Zhang K, Tay FR, Kim YK *et al.* (2010) The effect of initial irrigation with two different sodium hypochlorite concentrations on the erosion of instrumented radicular dentin. *Dental Materials* **26**, 514-23.
- Zhang W, Torabinejad M, Li Y (2003) Evaluation of cytotoxicity of MTAD using the MTT-tetrazolium method. *Journal of Endodontics* **29**, 654-7.

Figure legends

Figure 1. Schematic of the test system inserted in one well of a 48-well plate. Each test solution was placed inside the dental root and incubated for 1 hour. Subsequently, the culture medium was collected from the plate and stored in an incubator at 37°C for 24 hours before the cell culture treatment.

Figure 2. Representative SEM images showing the morphology of the root dentine after treatment with distilled water (Group I - a, e, i); 17% EDTA (Group II - b, f, j); the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution (Group III - c, g, k); and 17% EDTA + the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution (Group IV - d, h, l) at the cervical (a, b, c, d), middle (e, f, g, h) and apical root thirds (i, j, k, l).

Figure 3. Relative (%) human fibroblast viability after a 24-hour exposure to different extract concentrations (100, 50, 25 and 12.5%). Negative control: cells exposed only to DMEM + 10% FBS. Positive control: 1% Triton X-100. Group I: DMEM + 10% FBS. Group II: 5.25% NaOCl. Group III: the [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution. Group IV: dissolution product [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L + NiTi].

The values represent the mean and standard deviation of three independent experiments performed in triplicate for each experimental group. The Kruskal-Wallis test with Dunn's post-test were performed to analyze the cell viability (percentage) of the experimental groups at each dilution. ⁺⁺⁺p<0.001, 1% Triton X-100 vs. DMEM + 10% FBS and Group I; #p<0.05, ^{###}p<0.001, Group III and Group IV vs. 1% Triton X-100, respectively; **p<0.01; ***p<0.001.

Table 1. Vickers Microhardness (HV) testing of root canal dentin in the cervical (C), middle (M) and apical (A) thirds before and after treatment, and the microhardness variation (Δ_{HV}).

Group	Third	Pretreatment	Post-treatment	Delta (HV)
I	C	48.32 ± 3.20	51.10 ± 2.35 ^a	+3.65 ± 1.04 ^b
	M	50.33 ± 3.38	52.46 ± 2.78	+2.44 ± 1.23 ^d
	A	47.80 ± 3.01	48.95 ± 2.38	+1.15 ± 1.28 ^f
II	C	48.84 ± 2.38	45.11 ± 1.21 ^a	-4.96 ± 1.27 ^c
	M	47.76 ± 2.08	44.39 ± 1.94 ^a	-3.37 ± 1.58 ^e
	A	43.46 ± 1.96	39.96 ± 2.15 ^a	-4.75 ± 1.31 ^g
III	C	44.70 ± 3.35	44.70 ± 2.25	+0.34 ± 2.17 ^b
	M	48.41 ± 1.90	46.46 ± 1.45	-1.94 ± 1.12 ^e
	A	42.41 ± 2.71	40.53 ± 2.44	-1.87 ± 1.12 ^f
IV	C	42.17 ± 2.09	39.75 ± 2.09 ^a	-3.42 ± 1.38 ^c
	M	45.41 ± 1.79	41.03 ± 1.74 ^a	-4.44 ± 0.71 ^e
	A	39.71 ± 2.42	36.35 ± 3.37 ^a	-3.36 ± 0.82 ^g

Values represent the mean ± standard deviation (n = 10). Paired student's t-test for pre- and post-treatment comparisons of the different groups in each root third; ^ap < 0.05 vs. pre-treatment. One-way ANOVA followed by Tukey's test for the different experimental groups in each root third; different letters in each third indicate p < 0.05. Group I: distilled water; Group II: 17% EDTA; Group III: [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution; Group IV: 17% EDTA + [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution.

Table 2. Number (N) and area (A) of the dentin tubules in the cervical, middle and apical root thirds.

Group	Cervical		Middle		Apical	
	N	A (μm^2)	N	A (μm^2)	N	A (μm^2)
I	127 \pm 16 ^a	0.30 \pm 0,04 ^g	96 \pm 9 ^e	0.43 \pm 0.13 ^k	72 \pm 12 ^e	0.28 \pm 0.03 ^l
II	131 \pm 7 ^{a,b}	1.41 \pm 0,20 ^h	107 \pm 4 ^e	1.46 \pm 0.22 ^j	97 \pm 8 ^e	0.62 \pm 0.13 ^{l,m}
III	158 \pm 12 ^{a,b}	0.65 \pm 0,08 ^{g,h}	140 \pm 8 ^e	0.91 \pm 0.10 ^{kj}	86 \pm 10 ^e	0.66 \pm 0.15 ^{l,m}
IV	189 \pm 21 ^b	2.53 \pm 0,39 ⁱ	187 \pm 17 ^d	1.52 \pm 0.26 ^j	164 \pm 13 ^f	0.82 \pm 0.13 ^m

Values represent the mean \pm standard deviation (n = 10). One-way ANOVA followed by Tukey's testing for comparisons between experimental groups in the same root third for the number (N) and area (A) of the dentin tubules; different letters indicate significant differences between groups, and equivalent letters indicate the absence of a significant difference (p < 0.05). Group I: distilled water; Group II: 17% EDTA; Group III: [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution; Group IV: 17% EDTA + [NaF 12 g/L + NaCl 1 g/L] solution.

ANEXO III – Comitê de Ética

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
CLEMENTINO FRAGA FILHO
(HUCFF/ UFRJ)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTUDO IN VITRO DA DISSOLUÇÃO ELETROQUÍMICA DE FRAGMENTOS DE LIMA EM CANAIS RADICULARES E SEUS EFEITOS SOBRE OS TECIDOS

Pesquisador: Caroline Chavadian Fonseca Amaral

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 46029215.7.0000.5257

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Patrocinador Principal: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.187.133

Data da Relatoria: 30/07/2015

Apresentação do Projeto:

Protocolo 157-15. Respostas recebidas em 21.07.2015.

Introdução:

Durante o preparo químico-mecânico dos canais radiculares podem ocorrer fraturas por torção ou fadiga de instrumentos endodônticos, podendo impedir a limpeza adequada e modelagem dos canais radiculares. O uso de soluções que facilitem a remoção de fragmentos de limas pode representar um grande avanço no tratamento endodôntico, tendo em vista que a fratura de limas é um problema clínico frequente e de alto custo. Na literatura vários métodos são descritos para a remoção mecânica de limas fraturadas no interior de canais radiculares (MASSERANN, 1971, FELDMAN et al. 1974, WEISMAN, 1983, FORS & BERG, 1983, ROIG-GREENE, 1983, KRELL et al. 1984, NAGAI et al. 1986, HÜLSMANN, 1993, 1994, RUDDLE, 1997, SUTER, 1998, ELEAZER & O'CONNOR, 1999, OKIJI, 2003, TERAUCHI et al. 2006), porém estes métodos apresentam limitações e podem ser prejudiciais, tendo como consequência a fragilização e perfuração da raiz remanescente. Em estudo recente, ORMIGA et al (2010) propôs um novo método de remoção de fragmentos metálicos do interior de canais radiculares simulados através da dissolução ativa destes fragmentos. O método consiste de dois eletrodos imersos na solução, um atuando como

Endereço: Rua Prof. Rodolpho Paulo Rocco Nº255 Sala 01D-46
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 21.941-913
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3938-2480 **Fax:** (21)3938-2481 **E-mail:** cep@hucff.ufrj.br

Continuação do Parecer: 1.187.133

proposto e após serão secos e submetidos a avaliação da microdureza: Grupo A: 1ml água destilada (5 min). Grupo B: 1ml EDTA (5min) +1ml água destilada (5 min). Grupo C: 3ml solução de teste 1 (1h) + 1ml água destilada (5 min). Grupo D: 1ml EDTA (5 min) + 5ml água destilada + 3ml solução de teste 1(1h) + 1ml água destilada (5min). Um microdurometro de dureza Vickers com carga de 300 gramas durante 20 segundos será utilizado na

análise da dureza da dentina. Será realizada 1 edentação com profundidade de 300 µm nos terços cervical, médio e apical. A média e o desvio padrão dos valores obtidos referente aos ensaios de microdureza serão calculados e analisados estatisticamente.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

- Aprimorar o método de dissolução eletroquímica de fragmentos de lima em canais radiculares utilizando dentes humanos extraídos
- Avaliar os efeitos da solução de fluoreto de sódio e cloreto de sódio utilizadas no processo de dissolução eletroquímica sobre o tecido dentinário através da análise por microscopia eletrônica de varredura e de testes de microdureza

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo a pesquisadora:

"Riscos: O estudo não oferece nenhum risco. É um estudo in vitro laboratorial, onde serão utilizados 80 dentes humanos extraídos.

Benefícios: O aprimoramento deste novo método irá favorecer o endodontista ajudando de maneira efetiva no tratamento endodôntico, de modo que as pessoas possam tratar seus dentes com sucesso."

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Serão utilizados neste estudo 20 molares superiores e 60 dentes unirradiculares permanentes. A solução utilizada será de [NaF 12g/L+ NaCl 1g/L], pH=5.0. Para a avaliação da dissolução eletroquímica de fragmentos de lima em canais radiculares, 20 molares superiores serão radiografados e acessados. 20 limas Protaper F2 de níquel-titânio serão utilizadas. Cada lima será então acionada em rotação e posicionadas no interior do canal disto-vestibular do dente até que o instrumento seja fraturado e o fragmento permaneça preso no terço médio do interior do canal radicular. Os dentes serão radiografados e analisados por microtomografia. Uma lima manual #10 será utilizada para verificar a obstrução dos canais pelos fragmentos de lima. Para a polarização

Endereço: Rua Prof. Rodolpho Paulo Rocco Nº255 Sala 01D-46
Bairro: Cidade Universitária CEP: 21.941-913
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3938-2480 Fax: (21)3938-2481 E-mail: cep@hucff.ufrj.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
CLEMENTINO FRAGA FILHO
(HUCFF/ UFRJ)



Continuação do Parecer: 1.187.133

PENDÊNCIA ATENDIDA.

2 - Quanto ao TCLE:

2.1- No arquivo intitulado Anexo 2 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - (TCLE).doc anexado em 9/6/2015, faltou descrever os possíveis desconfortos e riscos esperados para o paciente durante a realização do trabalho. Solicita-se adequação.

Resposta:Foi adicionado no primeiro parágrafo ao termo a seguinte frase " Contudo, uma vez que os dentes já seriam extraídos por motivos de doença periodontal ou motivos ortodônticos, este estudo não irá apresentar nenhum desconforto e risco a você durante o tratamento".

PENDÊNCIA ATENDIDA.

2.2- No arquivo intitulado Anexo 2 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - (TCLE).doc anexado em 9/6/2015, a palavra "cópia" deve ser substituída por "via". Solicita-se adequação.

Resposta:Conforme solicitado pelo parecer a palavra "cópia" foi substituída por "via" no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Esta pode ser visualizada no terceiro parágrafo.

2.3- No arquivo intitulado Anexo 2 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - (TCLE).doc anexado em 9/6/2015, faltou detalhar melhor sobre a garantia de ressarcimento e como serão cobertas as despesas tidas pelos participantes da pesquisa e dela decorrentes. Além disso, detalhar também sobre a garantia de indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa. Solicita-se adequação.

Resposta: Conforme solicitado foi acrescentado ao termo " A sua participação não terá, em momento algum, despesas financeiras pessoais. Você não receberá pagamento por sua participação neste estudo". Nesta pesquisa o paciente irá doar de forma voluntária os dentes que já seriam extraídos por motivos de doença periodontal ou por motivos ortodônticos não havendo necessidade de auxílio referente ao transporte e alimentação uma vez que, os dentes já seriam extraídos por motivos de doença pelo cirurgião dentista.

PENDÊNCIA ATENDIDA.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Prof. Rodolpho Paulo Rocco Nº255 Sala 01D-46
Bairro: Cidade Universitária CEP: 21.941-913
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3938-2480 Fax: (21)3938-2481 E-mail: cep@hucff.ufrj.br

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTUDO IN VITRO DOS EFEITOS CITOTÓXICOS DA SOLUÇÃO UTILIZADA NO PROCESSO DE DISSOLUÇÃO ELETROQUÍMICA DE FRAGMENTOS DE LIMAS EM CANAIS RADICULARES.

Pesquisador: Caroline Chavadian Fonseca Amaral

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 49304815.0.0000.5257

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Patrocinador Principal: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.248.843

Apresentação do Projeto:

Protocolo 248-15, do grupo III, recebido em 17.9.2015.

INTRODUÇÃO:

A fratura de limas endodônticas é um problema encontrado durante o tratamento endodôntico pois este tipo de falha poderá impedir a limpeza e modelagem dos canais radiculares levando ao fracasso do tratamento. O uso de soluções que facilitem a remoção de fragmentos de limas pode representar um grande avanço no tratamento endodôntico, tendo em vista que a fratura de limas é um problema clínico frequente e de alto custo. Na literatura vários métodos são descritos para a remoção mecânica de limas fraturadas no interior de canais radiculares (MASSERANN, 1971, FELDMAN et al. 1974, WEISMAN, 1983, FORS & BERG, 1983, ROIG-GREENE, 1983, KRELL et al. 1984, NAGAI et al. 1986, HÜLSMANN, 1993, 1994, RUDDLE, 1997, SUTER, 1998, ELEAZER & O'CONNOR, 1999, OKIJI, 2003, TERAUCHI et al. 2006), porém estes métodos apresentam limitações e podem ser prejudiciais, tendo como consequência a fragilização e perfuração da raiz remanescente. Em estudo recente, ORMIGA et al (2010) propôs um novo método de remoção de fragmentos metálicos do interior de canais radiculares simulados através da dissolução ativa destes fragmentos. O método consiste de dois eletrodos imersos na solução, um atuando como anodo e outro como catodo. O contato entre a lima fraturada e o eletrodo usado como anodo é

Endereço: Rua Prof. Rodolpho Paulo Rocco N°255 Sala 01D-46

Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 21.941-913

UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)3938-2480 **Fax:** (21)3938-2481 **E-mail:** cep@hucff.ufrj.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
CLEMENTINO FRAGA FILHO
(HUCFF/ UFRJ)



Continuação do Parecer: 1.248.843

necessário para que o processo de dissolução ocorra. Uma diferença de potencial eletroquímico adequada é aplicada entre os dois eletrodos, o que resulta na migração dos elétrons do anodo para o catodo e, por conseguinte, a liberação de íons metálicos na solução. Este processo corresponde à dissolução progressiva do fragmento no interior do canal radicular. Neste contexto, ABOUD et al (2014) demonstraram que a liga NiTi sofre dissolução ativa mais intensa com a aplicação do potencial de +0,6 VECS, em solução de [NaF 12g/L + NaCl 1g/L], pH=5,0 do que nas condições previamente propostas por ORMIGA et al. (2010). Os autores observaram a dissolução parcial das limas de NiTi no interior de canais simulados após 60 minutos, o que permitiu a recuperação do trajeto original do canal com a utilização de uma lima K #10 em um tempo mais aceitável para a prática clínica. AMARAL et al. (2014) demonstraram que a liga de aço inoxidável sofre dissolução localizada com aplicação de um potencial de +0,5VECS na solução [NaF 5g/L + NaCl 175,5g/L], em pH=5,0. Entretanto, não existem estudos caracterizando os efeitos citotóxicos dessas soluções de cloreto e fluoreto. Durante o tratamento endodôntico as soluções irrigadoras podem entrar em contato com os tecidos pulpare e periapicais podendo causar complicações. Diante disso, é importante o estudo dos efeitos citotóxicos que esses irrigantes podem causar, uma vez, que um irrigante ideal não pode ser tóxico para organismo

HIPÓTESE:

A solução utilizada no processo de dissolução de fragmento de lima não é tóxica para os tecidos pulpare e adjacentes ao dente.

OBJETIVO:

Avaliar a citotoxicidade da solução utilizada no processo de dissolução eletroquímica de fragmentos de lima em canais radiculares e dos produtos deste sobre as células do ligamento periodontal.

METODOLOGIA PROPOSTA:

Serão utilizados neste estudo 45 dentes unirradiculares permanentes, extraídos por motivos terapêuticos na clínica de cirurgia na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro e cedidos voluntariamente para esta pesquisa. Após a extração os dentes serão armazenados em frascos individuais contendo formol 10%, serão limpos, escovados e autoclavados antes dos testes. A solução utilizada neste estudo será de [NaF 12g/L+ NaCl 1g/L], pH=5 denominada solução teste 1. Para a realização dos ensaios de polarização serão utilizadas

Endereço: Rua Prof. Rodolpho Paulo Rocco Nº255 Sala 01D-46
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 21.941-913
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3938-2480 **Fax:** (21)3938-2481 **E-mail:** cep@hucff.ufrj.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
CLEMENTINO FRAGA FILHO
(HUCFF/ UFRJ))



Continuação do Parecer: 1.248.843

Infraestrutura	CAO_versao_2.pdf	17/09/2015 08:09:16	Caroline Chavadian Fonseca Amaral	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	ANEXO_3_sem_assinatura_DECLARACAO_DE_RESPONSABILIDADE_DA_INSTITUICAO_versao_2.doc	17/09/2015 08:03:11	Caroline Chavadian Fonseca Amaral	Aceito
Declaração de Pesquisadores	ANEXO_1_assinada_DECLARACAO_DE_RESPONSABILIDADE_DO_PESQUISADOR_RESPONSAVEL.doc	17/09/2015 08:02:41	Caroline Chavadian Fonseca Amaral	Aceito
Declaração de Pesquisadores	ANEXO_1_assinada_DECLARACAO_DE_RESPONSABILIDADE_DO_PESQUISADOR_RESPONSAVEL.pdf	17/09/2015 08:02:06	Caroline Chavadian Fonseca Amaral	Aceito
Declaração de Pesquisadores	ANEXO_1_sem_assinatura_DECLARACAO_DE_RESPONSABILIDADE_DO_PESQUISADOR_RESPONSAVEL.doc	17/09/2015 08:01:41	Caroline Chavadian Fonseca Amaral	Aceito
Outros	CARTA_DE_APRESENTACAO_Assinada.doc	17/09/2015 08:01:01	Caroline Chavadian Fonseca Amaral	Aceito
Outros	CARTA_DE_APRESENTACAO_Assinada.pdf	17/09/2015 08:00:20	Caroline Chavadian Fonseca Amaral	Aceito
Outros	CARTA_DE_APRESENTACAO_semassinatura.doc	17/09/2015 07:59:30	Caroline Chavadian Fonseca Amaral	Aceito
Outros	TERMO_DE_CESSAO_DE_DENTES_PERMANENTES_versao_2.doc	17/09/2015 07:58:10	Caroline Chavadian Fonseca Amaral	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_DE_CONSENTIMENTO_LIVRE_E_ESCLARECIDO_versao_2.doc	17/09/2015 07:56:42	Caroline Chavadian Fonseca Amaral	Aceito
Folha de Rosto	FOLHA_DE_ROSTO.pdf	17/09/2015 07:55:52	Caroline Chavadian Fonseca Amaral	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIO DE JANEIRO, 29 de Setembro de 2015

Assinado por:
Carlos Alberto Guimarães
(Coordenador)

Endereço: Rua Prof. Rodolpho Paulo Rocco Nº255 Sala 01D-46
Bairro: Cidade Universitária CEP: 21.941-913
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3938-2480 Fax: (21)3938-2481 E-mail: cep@hucff.ufrj.br