

Maira Caroline Conte

**ANÁLISE EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DA
SUPERFÍCIE DENTINÁRIA APÓS PREPARO DO CANAL PARA
PROCEDIMENTO ENDODÔNTICO REGENERATIVO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Departamento de
Odontologia da Universidade Federal de
Santa Catarina como requisito parcial
para obtenção do título de Cirurgião
Dentista.

Orientador: Prof. Dr. Lucas da Fonseca
Roberti Garcia

Florianópolis

2017

**ANÁLISE EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DA
SUPERFÍCIE DENTINÁRIA APÓS PREPARO DO CANAL PARA
PROCEDIMENTO ENDODÔNTICO REGENERATIVO**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de cirurgião-dentista, e aprovado em sua forma final pelo Departamento de Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 16 de Maio de 2017.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Lucas da Fonseca Roberti Garcia
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^a. Dr^a. Ana Maria Hecke Alves
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^a. Dr^a. Cleonice da Silveira Teixeira
Universidade Federal de Santa Catarina

A toda minha família, em especial aos meus pais, **Antonio Luiz Conte** e
Lorena Schaparini Conte, os quais sempre me apoiaram,
Sem nunca medir esforços, na busca dos meus sonhos,

Com muito amor dedico.

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo agradeço a **Deus** pelo dom da vida, pela oportunidade de, a cada amanhecer, tornar as coisas possíveis. Por iluminar meu caminho e por colocar em meus dias tantos momentos e pessoas maravilhosas.

Aos **meus queridos pais**, sem os quais nada disso seria possível. Obrigada por serem minha maior fonte de inspiração, dedicação e amor. Por terem me ensinado, desde sempre, a verdadeira importância dos valores na construção do caráter; e por, mesmo de longe, fazer parecer estarmos perto. Vocês são minha única certeza de que nunca estarei sozinha. Palavra nenhuma é capaz de demonstrar o tamanho da minha gratidão!

Ao meu irmão, **Marco**, por ter compartilhado os melhores momentos comigo e por ser o melhor irmão que eu poderia ter. É muito bom saber que tenho você ao meu lado sempre. Torço demais por sua felicidade! Amo você (mas continuo sendo a “filha mais velha preferida”, rs).

Aos meus avós, **Nelson e Vilma**, por demonstrar, através de seu exemplo de vida, o quanto vale a pena lutar pelos sonhos. Obrigada por sempre me acolherem da forma mais carinhosa do mundo.

A **toda a minha família**, por sempre se mostrar disposta a me ajudar, querer o meu bem e confortar nos momentos de angústia.

Ao Professor **Wilson Tadeu Felipe**, por todo o empenho, desde o início, na construção desse trabalho e por toda a disponibilidade sempre que precisei. Sou grata por todos ensinamentos compartilhados.

Ao Professor Doutor **Lucas da Fonseca Roberti Garcia**, por aceitar assumir este trabalho com tanta determinação, dedicação e responsabilidade. Sou muito grata por ter estado sempre disponível para me ajudar, e, para, mesmo em pouco tempo, compartilhar tanto conhecimento.

À Pós-Doutoranda **Luciane Geanini Pena**, por abraçar esse trabalho com tanta determinação e empenho desde o primeiro dia. Por entender minhas limitações como aluna e por se mostrar sempre disponível para me ajudar em todas as etapas deste trabalho. Lu, pode ter certeza que carregarei comigo esse exemplo de força, garra e determinação. Você é demais! Muito obrigada.

À Professora Doutora **Cleonice da Silveira Teixeira** pela contribuição essencial nesse trabalho. Sou fã do modo como consegue transmitir ensinamentos aos alunos com tanta dedicação e afeto. Sou grata, também, por todas as vezes em que cedeu um tempinho seu para me esperar sair do laboratório sempre correndo e poder fechar a Endo, rs.

À Professora Doutora **Ana Maria Hecke Alves** por aceitar ser banca deste trabalho e contribuir para o melhoramento do mesmo. Obrigada por todos os ensinamentos, com certeza eles contribuíram muito para a minha formação.

À Professora **Beatriz Dulcinéia Mendes de Souza** por aceitar ser suplente desta banca, e, também por todas as experiências e ensinamentos compartilhados, seja em sala de aula ou em clínica.

Ao meu namorado e dupla **Fernando**, obrigada por estar sempre presente e disposto a ajudar, seja com o trabalho ou simplesmente com palavras ou abraço de conforto. Sou muito grata por toda a energia e motivação que me passas a cada dia, admiro demais a pessoa que és. Amo você.

Aos meus **verdadeiros amigos**, desde os mais antigos aos mais novos, com os quais pude contar em qualquer momento, pude desabafar e também trocar milhares de risadas. Vocês são anjos e minha vida! Obrigada por todos os

momentos vividos e por me fazer querer novos momentos assim se repitam ao longo da minha vida. Amizades assim não têm preço.

Aos demais **professores da UFSC**, que de alguma forma contribuíram ao longo da graduação, sempre se esforçando e visando pelo aprendizado. Sou grata por cada estímulo e demonstração de amor à profissão.

Aos **servidores da UFSC**, que de alguma forma contribuíram durante a vida acadêmica.

**“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em
Se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo,
Quem busca e vence obstáculos, no mínimo
Fará coisas admiráveis. ”
(José de Alencar)**

RESUMO

Procedimentos endodônticos regenerativos têm sido sugeridos como uma alternativa aos tratamentos convencionais para dentes imaturos despolpados. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de diferentes associações entre soluções irrigantes e pastas medicamentosas no pré-tratamento da dentina radicular durante um procedimento endodôntico regenerativo. Oitenta dentes bovinos hígidos, simulando dentes com rizogênese incompleta, foram distribuídos aleatoriamente de acordo com os protocolos de pré-tratamento da dentina radicular (n=10): Controle (irrigação com água destilada); HS (irrigação com Hipoclorito de Sódio a 1,5%); EDTA (irrigação com EDTA a 17%); HS/EDTA (irrigação com HS 1,5% + EDTA 17%); HS/HC/EDTA (irrigação com HS 1,5% + pasta de Hidróxido de Cálcio + EDTA 17%); HS/TAPM/EDTA (irrigação com HS 1,5% + pasta triantibiótica modificada + EDTA 17%); HS/TAP/EDTA (irrigação com HS 1,5% + pasta triantibiótica + EDTA 17%) e HS/DAP/EDTA (irrigação com HS 1,5% + pasta diantibiótica + EDTA 17%). Após a realização dos protocolos, a desmineralização, a exposição de fibras colágenas e a erosão dentinária foram avaliadas em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) aplicando-se um escore (1-3) para classificar os eventos observados. Os grupos HS/TAP/EDTA e HS/DAP/EDTA apresentaram os maiores índices de desmineralização nos terços cervical e médio. No grupo HS/TAPM/EDTA as amostras apresentaram desmineralização moderada. Já no grupo HS/HC/EDTA os achados foram semelhantes aos do grupo controle. Pôde-se concluir que as pastas triantibiótica convencional (TAP) e diantibiótica (DAP) foram as que mais promoveram mudanças morfológicas na superfície dentinária.

Palavras-chave: Tratamento endodôntico regenerativo; Pasta antibiótica, Hidróxido de cálcio; Hipoclorito de sódio; EDTA; Superfície dentinária.

ABSTRACT

Regenerative endodontic procedures have been suggested as an alternative to conventional treatments for pulpless immature teeth. The purpose of this study was to evaluate the effect of different associations among irrigating solutions and dressing pastes in the pre-treatment of root dentin during a regenerative endodontic procedure. Eighty healthy bovine teeth, simulating teeth with incomplete rhizogenesis, were randomly distributed according to pretreatment protocols of root dentin (n=10): Control (irrigation with distilled water); SH (irrigation with 1.5% Sodium Hypochlorite); EDTA (irrigation with 17% EDTA); SH/EDTA (irrigation with 1.5% SH + 17% EDTA); SH/CH/EDTA (irrigation with 1.5% SH + Calcium Hydroxide paste + 17% EDTA); SH/MTAP/EDTA (irrigation with 1.5% SH + modified triantibiotic paste + EDTA 17%); SH/TAP/EDTA (irrigation with 1.5% SH + triantibiotic paste + 17% EDTA) and SH/DAP/EDTA (irrigation with 1.5% SH + diantibiotic paste + EDTA 17%). After protocols completion, the demineralization, the exposure of collagen fibers and the dentin erosion were evaluated in Scanning Electron Microscopy (SEM), by applying a score (1-3) to classify the observed features. SH/TAP/EDTA and SH/DAP/EDTA groups presented the highest rates of demineralization in both coronal and middle root thirds. In the SH/MTAP/EDTA group, the samples presented moderate demineralization. The samples from the SH/CH/EDTA group presented similar findings to those of the control group. It was concluded that the conventional triantibiotic (TAP) and diantibiotic (DAP) pastes promoted more pronounced morphological changes on the dentin surface.

Keywords: Regenerative endodontic treatment; Antibiotic paste; Calcium hydroxide; Sodium hypochlorite; EDTA; Dentinal surface.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Eletromicrografias representativas das superfícies dentinárias após pré-tratamento com as diferentes associações entre soluções irrigadoras e pastas medicamentosas.....29

Figura 2. Eletromicrografias representativas das superfícies dentinárias após pré-tratamento com as diferentes associações entre soluções irrigadoras e pastas medicamentosas.....30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Distribuição das amostras segundo os protocolos de tratamento.....25

Tabela 2. Valores médios dos escores obtidos a partir da análise das imagens em MEV.....27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAE: *American Association of Endodontists*

DAP: pasta diantibiótica (do inglês: *diantibiotic paste*)

EDTA: ácido etilenodiaminotetracético (do inglês: *ethylenediaminetetraacetic acid*)

HC: hidróxido de cálcio

MTA: agregado de trióxido mineral (do inglês: *mineral trioxide aggregate*)

TAPM: pasta triantibiótica modificada (do inglês: *modified triantibiotic paste*)

HS: hipoclorito de sódio (do inglês: *sodium hypochlorite*)

pH: potencial hidrogeniônico

TAP: pasta triantibiótica (do inglês: *triantibiotic paste*)

Sumário

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2. OBJETIVOS.....	19
2.1. Geral.....	19
2.2. Específicos	19
3. ARTIGO	20
4. CONCLUSÃO	37
5. REFERÊNCIAS.....	38

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

A cárie dental ainda é a doença infecciosa mais prevalente entre os seres humanos, configurando um grande desafio para a Odontologia (PETERSEN *et al.*, 2005). Além da cárie, o trauma dental também apresenta alta incidência, especialmente em crianças e adolescentes, devido ao tipo de atividade realizada nesta fase da vida (ANDERSSON, 2013). Assim, a cárie e o trauma dental se tornam causas comuns de injúria pulpar, podendo levar à necrose deste tecido, comprometendo o desenvolvimento dos segmentos radiculares em dentes imaturos (LABBAN, *et al.*, 2014; SAOUD, *et al.*, 2014).

Quando há necessidade de tratamento endodôntico em dentes permanentes imaturos despolpados, o profissional se depara com múltiplos desafios, especialmente nos procedimentos para desinfecção e obturação do canal radicular (TROPE, 2006). Por apresentarem paredes radiculares finas, o preparo mecânico do canal não pode ser realizado da forma convencional para não fragilizar ainda mais a estrutura radicular (BANCHS & TROPE, 2004; NOSRAT, SEIFI, ASGARI, 2011). Desta forma, a desinfecção deve ser realizada com mínimo ou nenhum debridamento mecânico, valorizando o uso de soluções irrigadoras com alto poder antimicrobiano e de medicações intracanal para eliminação de bactérias e de seus subprodutos do sistema de canais radiculares (BANCHS, TROPE, 2004; TROPE, 2006).

Tradicionalmente, após a desinfecção, o tratamento de dentes com rizogênese incompleta visa sua apicificação (RAFTER, 2005; GARCIA-GODOY & MURRAY, 2012) ou a formação de uma barreira apical artificial utilizando biomateriais próprios para tal procedimento (TROPE, 2006; GARCIA-GODOY & MURRAY, 2012). Embora tais precauções sejam tomadas, ao final do tratamento, os dentes permanecem com o comprimento menor do que o do seu homólogo e com paredes radiculares finas e suscetíveis à fratura (IWAYA, IKAWA, KUBOTA, 2001; BANCHS & TROPE, 2004; TROPE, 2006).

Buscando sanar tais limitações terapêuticas, procedimentos endodônticos regenerativos foram desenvolvidos e introduzidos como uma opção de tratamento para dentes permanentes imaturos despolpados (THIBODEAU & TROPE, 2007; THIBODEAU, 2009; LENZI & TROPE, 2012). Por meio de uma

abordagem biológica que visa regenerar o tecido pulpar, esses procedimentos têm potencial para restabelecer o complexo dentina-polpa e permitir a continuidade do desenvolvimento radicular em largura e extensão (JUNG *et al.*, 2008).

Entretanto, o controle da infecção do canal radicular ainda é o objetivo primário das terapias endodônticas, incluindo as regenerativas (GARCIA-GODOY & MURRAY, 2012). Uma inflamação persistente pode interferir na viabilidade, diferenciação e maturação das células da papila apical, resultando na interrupção do desenvolvimento radicular de dentes imaturos (GARCIA-GODOY & MURRAY, 2012).

Segundo o protocolo para procedimentos regenerativos sugerido pela Associação Americana de Endodontistas (AAE, 2015), a desinfecção do canal radicular pode ser realizada pela irrigação com solução de hipoclorito de sódio 1,5% (HS), seguido pela aplicação de medicação intracanal de pasta de hidróxido de cálcio (HC) ou triantibiótica (TAP), composta por metronidazol, ciprofloxacina e minociclina, por um período de 1 a 4 semanas. O uso dessas medicações é recomendado, pois, mesmo que o HS apresente um bom poder antimicrobiano, sua ação é potencializada com o uso dessas pastas (SAFAVI & NICHOLS, 1994).

Entretanto, esse protocolo pode ser alterado dependendo da resposta do paciente à terapia, pois a substituição da medicação intracanal pode ser necessária, ou ainda o aumento de seu tempo de uso por até 11 semanas para uma efetiva ação antimicrobiana (THIBODEAU & TROPE, 2007). Decorrido este período, e com a confirmação da ausência de sinais e sintomas, procede-se com a irrigação do canal radicular com EDTA a 17%. Tal irrigação favorece a liberação de fatores de crescimento, que são moléculas bioindutoras presentes na matriz dentinária, as quais interagem com as células sinalizando a migração, adesão, proliferação e diferenciação celular (LOVELACE *et al.*, 2011). Em seguida, a estimulação dos tecidos periapicais com um instrumento endodôntico levará a formação de um coágulo sanguíneo intracanal, que servirá como fonte de células progenitoras e como arcabouço (LOVELACE *et al.*, 2011; DIOGENES *et al.*, 2013). A interação desses três elementos (células, arcabouço e fatores de crescimento) culminará na formação de um novo tecido (LOVELACE *et al.*, 2011; DIOGENES *et al.*, 2013). Após esses procedimentos, é recomendado o

selamento da porção cervical do canal com Agregado de Trióxido Mineral (MTA) ou cimento de ionômero de vidro, seguido de restauração da coroa dental (LOVELACE *et al.*, 2011).

Todas as etapas do protocolo são de grande importância para o sucesso do tratamento regenerativo (PETRINO, *et al.*, 2010). Assim, a comunidade acadêmica tem se empenhado em aprofundar os conhecimentos em cada uma delas (PETRINO, *et al.*, 2010). Em relação a medicação intracanal, a pasta triantibiótica (TAP) tem sido a medicação mais utilizada pelos clínicos, e amplamente estudada pelos pesquisadores (PETRINO, *et al.*, 2010). Porém, estudos demonstraram que tal associação de antibióticos tem promovido indesejáveis alterações na cor de dentes submetidos a este tipo de terapia (TROPE, 2010; LABBAN, *et al.*, 2014). A presença da minociclina, um antibiótico da família das tetraciclina, parece estar relacionada à esta alteração na cor da estrutura dental (TROPE, 2010; LABBAN, *et al.*, 2014). Desse modo, autores sugerem a retirada da minociclina da composição da pasta antibiótica, mantendo apenas o metronidazol e a ciprofloxacina, que não demonstram ter relação com o manchamento dental (TROPE, 2010; LABBAN, *et al.*, 2014). Essa nova formulação foi denominada de pasta diantibiótica (DAP), e o seu efeito sobre a cor dos dentes, bem como sobre a viabilidade celular e a atividade antimicrobiana tem sido investigado (TROPE, 2010; LABBAN, *et al.*, 2014).

Além dos efeitos da supressão da minociclina da pasta antibiótica, outras formulações na qual a minociclina é substituída por outros antibióticos, como a amoxicilina e o cefaclor, têm sido avaliadas (TROPE, 2010; DIOGENES, *et al.*, 2014). Ainda, além das pastas acima citadas, a pasta de HC também pode ser utilizada como medicação intracanal quando se pretende realizar uma terapia regenerativa (RAFTER, 2005).

Como a matriz dentinária servirá de substrato para as células que irão colonizar o canal radicular, um adequado tratamento da dentina favorecerá a interação com essas células, influenciando na formação do tecido (ALTHUMAIRY, TEIXEIRA, DIOGENES, 2014). Porém, apesar do seu crescente emprego como opção de tratamento endodôntico, e dos benefícios creditados aos procedimentos regenerativos, os mecanismos envolvidos no processo de regeneração do tecido pulpar ainda não estão completamente elucidados (ALTHUMAIRY, TEIXEIRA, DIOGENES, 2014). Assim, é importante investigar

mais detalhadamente o microambiente onde ocorre o processo de formação tecidual.

A interação das células com as paredes dentinárias do canal radicular tem papel fundamental sobre a viabilidade celular e a indução de eventos como migração, adesão, proliferação e diferenciação, fundamentais para a regeneração do tecido pulpar (ALTHUMAIRY, TEIXEIRA, DIOGENES, 2014). Isso porque a matriz dentinária possui moléculas bioindutoras do comportamento celular (GRANDO MATTUELLA *et al.*, 2007; DEMARCO *et al.*, 2010). Na ausência dessas moléculas, as células não recebem a sinalização adequada para iniciar e manter eventos que irão determinar a formação, organização e manutenção do tecido alvo, a polpa dental (GRANDO MATTUELLA *et al.*, 2007; DEMARCO *et al.*, 2010).

A interação das células com o substrato dentinário é favorecida quando esta é tratada com substâncias que quelam o componente mineral da matriz dentinária, expondo a parte orgânica, a matriz colágena (YASSEN *et al.*, 2013a). O colágeno é reconhecido como um dos melhores substratos para as células, facilitando a sua adesão e demais eventos celulares (GALLER *et al.*, 2011; WIGLER *et al.*, 2013).

Yassen *et al.* (2013a) demonstraram que a dentina tratada com HC (por 1, 2 e 4 semanas) não apresentou sinais de desmineralização, o que suporta a hipótese de haver um efeito de desnaturação da matriz orgânica dentinária devido ao pH alcalino do HC. Entretanto, nesse mesmo estudo foi observado que, tanto a pasta triantibiótica, quanto a pasta diantibiótica, desmineralizam a dentina, e expõem a matriz colágena. Devido a exposição das fibras colágenas, e pela liberação de fatores de crescimento, os autores concluíram que estas pastas são fundamentais para o preparo de um ambiente favorável à interação com células-tronco (YASSEN *et al.*, 2013a).

Um estudo recente demonstrou que a associação entre EDTA a 17% e HS a 1,5% promoveu erosão dentinária (YASSEN, ECKERT, PLATT, 2015). Neste mesmo estudo também foi observado que as amostras tratadas adicionalmente com TAP apresentaram maior erosão de superfície. Segundo esses autores, tais achados se devem à ação quelante do EDTA, que foi intensificada quando a TAP foi adicionada ao protocolo de tratamento, devido ao seu baixo pH (YASSEN, ECKERT, PLATT, 2015).

Sabe-se que o uso de soluções irrigadoras pode afetar as propriedades físicas e químicas da dentina, já que as mesmas agem tanto na parte orgânica, quanto inorgânica deste tecido (SALEH & ETMANN, 1999). A solução de HS possui excelente potencial antimicrobiano e capacidade de dissolução de matéria orgânica, e tem sido comumente associada ao EDTA, expondo assim, o colágeno da dentina (BAUMGARTNER & MADER, 1987; MOHAMMADI, 2008).

Da mesma forma que as soluções irrigadoras, as medicações intracanaís utilizadas nas terapias endodônticas regenerativas também possuem ação desmineralizadora (YASSEN, ECKERT, PLATT, 2015), destacando-se a pasta TAP, que possui pH ácido (2,9), e contém minociclina em sua formulação, um antibiótico com capacidade para quelar o cálcio da superfície dentinária. (YILMAZ, DUMANI, YOLDAS, 2016).

O efeito de desmineralização dentinária e, conseqüentemente, a exposição de fibras colágenas e de fatores de crescimento causado pelas pastas antibióticas proporciona um ambiente favorável para as células tronco o (YASSEN et al., 2013a). Porém, em contrapartida, uma exposição prolongada às pastas antibióticas e ao HC pode afetar as propriedades mecânicas da dentina (YASSEN, *et al.* 2013b).

Desse modo, é crucial o estudo das alterações químico-estruturais produzidas na superfície dentinária por materiais utilizados em terapias endodônticas regenerativas. Um substrato adequado para receber as células que irão formar o novo tecido pulpar é fundamental, uma vez que o desenvolvimento e a manutenção de um microambiente favorável está diretamente relacionado ao sucesso do tratamento regenerativo.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Tendo em vista o exposto, este estudo teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes associações entre soluções irrigantes e pastas medicamentosas no pré-tratamento da dentina radicular durante um procedimento endodôntico regenerativo.

2.2. Específicos

As amostras foram avaliadas, por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), quanto à: remoção de detritos; diâmetro e exposição dos túbulos dentinários; presença de erosão; exposição de fibras colágenas, e presença de remanescente de material.

3. ARTIGO

**Análise em microscopia eletrônica de varredura da superfície dentinária
após preparo do canal radicular para procedimento endodôntico
regenerativo ***

* Artigo formatado conforme normas do *International Endodontic Journal*/ISSN 1365-2591

Introdução

Procedimentos endodônticos regenerativos são uma opção de tratamento para dentes permanentes imaturos despulpados (Thibodeau 2009, Lenzi & Trope 2012). Através de uma abordagem biológica que visa a regeneração do tecido pulpar, esses procedimentos têm potencial para restabelecer o complexo dentina-polpa, permitindo a continuidade do desenvolvimento radicular em largura e extensão (Jung *et al.* 2008).

Nesses procedimentos, a instrumentação do canal radicular não pode ser realizada da forma convencional para não fragilizar ainda mais as paredes do canal, as quais já possuem uma fina espessura (Banchs & Trope 2004, Nosrat *et al.* 2011). Deste modo, a desinfecção deve ser realizada com pouco ou nenhum debridamento mecânico, valorizando o uso de soluções irrigadoras com alto poder antimicrobiano e de medicações intracanal (Banchs & Trope 2004, Trope 2006).

O hipoclorito de sódio é o agente antimicrobiano mais utilizado em endodontia para desinfecção do sistema de canais radiculares (Diogenes *et al.* 2014). A Associação Americana de Endodontistas (AAE 2015) recomenda que a desinfecção do canal radicular seja realizada pela irrigação com solução de hipoclorito de sódio 1,5% (HS), seguido pela aplicação de medicação intracanal de pasta de hidróxido de cálcio (HC) ou triantibiótica (TAP), composta por metronidazol, ciprofloxacina e minociclina, por um período de 1 a 4 semanas. Entretanto, esse protocolo pode ser alterado dependendo da resposta do paciente à terapia, podendo ser necessária a substituição da medicação intracanal, ou estendendo seu tempo de uso por até 11 semanas para uma efetiva ação antimicrobiana (Thibodeau & Trope 2007).

A minociclina, um antibiótico da família das tetraciclina, parece estar relacionada à alteração na cor da estrutura dental (Trope 2010, Labban *et al.* 2014). Assim, têm-se sugerido a retirada da minociclina da composição da pasta antibiótica, mantendo apenas o metronidazol e a ciprofloxacina, que não demonstram ter relação com o manchamento dental (Trope 2010, Labban *et al.* 2014). Essa nova formulação foi denominada de pasta diantibiótica (DAP) e o seu efeito sobre a cor dos dentes, bem como sobre a viabilidade celular e a atividade antimicrobiana tem sido investigado (Trope 2010, Labban *et al.* 2014). Além dos efeitos da supressão da minociclina da pasta antibiótica, outras

formulações na qual a minociclina é substituída por outros antibióticos, como a amoxicilina e o cefaclor, têm sido avaliadas (Trope 2010, Diogenes *et al.* 2014).

Após a utilização das medicações, e na ausência de sinais e sintomas, é recomendada a irrigação do canal com EDTA a 17%, a qual age como quelante, retirando o cálcio da dentina, expondo assim, a parte orgânica da matriz dentinária com suas proteínas morfogênicas (fatores de crescimento) (Casagrande *et al.* 2010). Após esta etapa, a estimulação dos tecidos periapicais com um instrumento endodôntico levará a formação de um coágulo sanguíneo intracanal, o qual servirá como fonte de células progenitoras e como arcabouço (Casagrande *et al.* 2010). A interação entre células, arcabouço e fatores de crescimento resultará na formação de um novo tecido pulpar (Lovelace *et al.* 2011).

Sabe-se que um adequado tratamento da dentina deve ser realizado durante a terapia endodôntica regenerativa, já que a matriz dentinária servirá de substrato para as células que irão colonizar o canal radicular, influenciando a formação do tecido (Yassen *et al.* 2013a). Deste modo, o estudo das alterações químico-estruturais produzidas na superfície dentinária por materiais utilizados neste tipo de terapia é crucial.

Este estudo teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes associações entre soluções irrigantes e pastas medicamentosas no pré-tratamento da dentina radicular durante um procedimento endodôntico regenerativo. A hipótese nula testada foi a de que as associações não apresentariam diferença significativa nas alterações morfológicas promovidas no substrato dentinário quando comparadas entre si.

Materiais e Métodos

Obtenção e preparo dos dentes

Para a realização deste experimento foram utilizados 80 dentes incisivos bovinos hígidos, unirradiculares, canal único, com raiz completamente formada e ápice fechado. Os dentes foram inicialmente lavados em solução fisiológica e limpos com curetas periodontais (Golgran, São Paulo, SP, Brasil), seguido de desinfecção por imersão em solução de hipoclorito de sódio a 1,5% (Extrato Vital, Florianópolis, SC, Brasil) por 3 minutos.

O comprimento médio da raiz dos dentes foi determinado em 24 mm (8 mm para cada terço), tendo como referência a junção amelocementária até o ápice radicular. Os 4 mm finais do terço apical foram seccionados com ponta diamantada cilíndrica (Fava, Pirituba, SP, Brasil) acoplada em alta rotação sob constante refrigeração, afim de simular dentes com rizogênese incompleta. Os outros 4 mm do terço apical foram descontados para confecção de um *plug* em cera utilidade (Lysandra Produtos Odontológicos Ltda., São Paulo, SP, Brasil), utilizado como selamento apical.

O acesso endodôntico foi realizado seccionando-se a coroa 5 mm acima da junção amelocementária com ponta diamantada cilíndrica acoplada em alta rotação, sob constante refrigeração. Em seguida, a câmara pulpar foi ampliada com ponta diamantada esférica (Fava, Pirituba, SP, Brasil) para facilitar o acesso e manuseio dos instrumentais durante o experimento. Finalizado o acesso endodôntico, o canal radicular foi esvaziado com extirpa-nervos (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça) e lima tipo Hedstroem #45 (Kendo, Munique, Alemanha), associados a irrigação com 20 mL de água destilada, evitando-se instrumentar as paredes do canal. Os dentes foram então distribuídos aleatoriamente (n=10) de acordo com o protocolo de tratamento realizado (Tabela 1).

As amostras dos grupos experimentais que receberam as medicações intracanal (Magistrale Farmácia de Manipulação, Florianópolis, SC, Brasil) foram irrigadas com 20 mL de HS por 5 minutos, seguidas de irrigação com 20 mL de soro fisiológico (LBS Laborasa, São Paulo, SP, Brasil), também por 5 minutos. Os canais radiculares foram então secos com cones de papel absorvente estéreis (Dentsply-Maillefer) e a medicação intracanal foi aplicada com uso de uma seringa hipodérmica de 5 mL. Em seguida, uma espiral Lentulo (Dentsply-Maillefer) foi acionada no interior do canal, de modo que este tenha ficado completamente preenchido pelas pastas. O selamento da porção coronal foi realizado com bolinha de algodão seca e estéril, e aplicação de um cimento provisório (Cavitec, caI THEC Produtos Odontológicos e Hospitalares, São José dos Pinhais, Paraná, Brasil). Os dentes foram armazenados em frascos com 30 mL de água destilada por 4 semanas, em temperatura ambiente (+/- 30°C), sendo a água destilada substituída a cada três dias. Para evitar a infiltração de água destilada pelo forame, e a conseqüente dissolução da medicação, os 4 mm

apicais que haviam sido selados com cera utilidade foram recobertos com uma fina camada de esmalte transparente (Top Beauty, Atibaia, SP, Brasil).

Decorrido o período de armazenamento (30 dias), os canais radiculares foram novamente acessados com brocas esféricas em baixa rotação. As medicações foram então removidas por irrigação com 20 mL de EDTA a 17% (Dermus Farmácia de Manipulação, Florianópolis, SC, Brasil) por 5 minutos, os canais foram secos com pontas de papel absorvente estéreis, e em seguida encaminhados para preparo para a análise. As amostras do grupo controle, e aquelas tratadas apenas com irrigação, foram imediatamente destinadas para preparo para a análise.

Tabela 1. Distribuição das amostras segundo os protocolos de tratamento.

Grupo	Protocolo de Tratamento
Controle	Irrigação com 20 mL de água destilada.
HS	Irrigação com 20 mL de HS a 1,5%.
EDTA	Irrigação com 20 mL de EDTA a 17%.
HS/EDTA	Irrigação com 20 mL de HS a 1,5% e irrigação final com 20 mL de EDTA a 17%.
HS/HC/EDTA	Irrigação com 20 mL de HS a 1,5% e medicação intracanal (HC), seguido de irrigação final com 20 mL de EDTA a 17%.
HS/TAPM/EDTA	Irrigação com 20 mL de HS a 1,5% e medicação intracanal (TAPM), seguido de irrigação final com 20 mL de EDTA a 17%.
HS/TAP/EDTA	Irrigação com 20 mL de HS a 1,5% e medicação intracanal (TAP), seguido de irrigação final com 20 mL de EDTA a 17%.
HS/DAP/EDTA	Irrigação com 20 mL de HS a 1,5% e medicação intracanal (DAP), seguido de irrigação final com 20 mL de EDTA a 17%.

EDTA: ácido etilenodiamino tetracético; HC: pasta de hidróxido de cálcio (veículo propilenoglicol); HS: hipoclorito de sódio; TAP: pasta triantibiótica (ciprofloxacina, metronidazol e minociclina - proporção 1:1:1; concentração final 0,1mg/mL); DAP: pasta diantibiótica (ciprofloxacina e metronidazol - proporção 1:1; concentração final 0,1mg/mL); TAPM: pasta triantibiótica modificada (ciprofloxacina, metronidazol e amoxicilina - proporção 1:1:1; concentração final 0,1mg/mL).

Análise em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As porções coronais remanescentes foram seccionadas próximas à junção amelocementária com ponta diamantada cilíndrica acoplada em alta

rotação, sob constante refrigeração. Em seguida, um cone de guta-percha (Dentsply-Maillefer) foi posicionado no interior do canal radicular para facilitar a visualização do lúmen e evitar ranhuras na dentina interna do mesmo. Foram, então confeccionadas, bilateralmente, canaletas longitudinais ao longo da raiz, nas partes vestibular e lingual (região de maior diâmetro da raiz), com auxílio de um disco metálico de corte, até o momento em que a guta-percha fosse visualizada. Com auxílio de um cinzel e de um martelo de borracha, as raízes foram seccionadas em 2 partes (mesial e distal) armazenadas em pequenos frascos com sílica, e mantidas em temperatura ambiente (+/- 30°C) até o momento da análise. Uma das metades foi montada em *stub* metálico (identificado segundo o grupo experimental), coberta com camada de ouro de 300 Å (Bal-Tec CD 005; Bal-Tec Co., Balzers, Liechtenstein) e analisada em Microscópio Eletrônico de Varredura (JEOL JSM-6390LV, Tóquio, Japão) operando em 10 kV, sob aumentos de 1.500, 2.000 e 5.000 x. Três eletromicrografias de cada terço radicular (cervical e médio), nos respectivos aumentos, foram utilizadas para análise qualitativa das condições morfológicas da superfície dentinária, contemplando os seguintes achados: remoção de detritos, diâmetro e exposição dos túbulos dentinários, presença de erosão, exposição de fibras colágenas e remanescentes de material aderido ao substrato dentinário. Um escore (1 a 3) também foi utilizado, considerando: 1 - presença de túbulos dentinários expostos na maior parte da área analisada; 2 - exposição de quantidade moderada de túbulos dentinários; e 3 - pequena quantidade de túbulos dentinários expostos na área de análise. A análise foi realizada de maneira cega, por um único examinador, previamente calibrado.

Resultados

Na Tabela 2 podem ser vistos os valores médios dos escores obtidos a partir da análise das imagens em MEV.

Tabela 2. Valores médios dos escores obtidos a partir da análise das imagens em MEV.

Escores	Terço Cervical	Terço Médio
Controle	3	2
HS	2	1
EDTA	1	2
HS/EDTA	2	2
HS/HC/EDTA	3	2
HS/TAPM/EDTA	2	2
HS/TAP/EDTA	1	1
HS/DAP/EDTA	1	1

Nas amostras do grupo controle foi observada presença de detritos em ambos os terços, porém, em maior quantidade no terço cervical, onde uma menor quantidade de túbulos dentinários permaneceu exposta (escore 3), em comparação ao terço médio (escore 2). Também foi possível observar neste mesmo grupo a presença de algumas poucas fibras colágenas expostas na região do terço médio da raiz (Figuras 1A/B e 2A).

No grupo onde a dentina foi tratada com HS a 1,5% notou-se ampla remoção da camada de detritos da superfície dentinária, expondo grande quantidade de túbulos dentinários em ambos os terços radiculares, em comparação com as amostras do grupo controle. A quantidade de fibras colágenas expostas também foi maior em ambos os terços, sendo que estas se apresentaram com maior destaque no terço médio. Não foi possível detectar a presença de erosão dentinária em ambos os terços radiculares (Figura 1C/D).

Já no grupo em que foi realizada irrigação com EDTA a 17% não foram observados sinais de erosão dentinária. Entretanto, os túbulos dentinários mostraram-se amplamente expostos, com escores distintos entre os terços cervical e médio (1 e 2, respectivamente). Foi constatada ainda a exposição de

fibras colágenas em ambos os terços, consequência da remoção da camada mineral da superfície dentinária. Alguns detritos também foram detectados em grande maioria no terço médio das amostras (Figuras 1E/F e 2B).

Não foi detectada em nenhuma das amostras a presença de erosão dentinária no grupo onde foi realizada irrigação com HS a 1,5% + EDTA a 17%. Em ambos os terços radiculares os achados observados foram semelhantes (escore 2). Foi ainda possível notar a presença de pequenos cristais de sal, devido a reação química do HS com EDTA. Houve também maior exposição dos túbulos dentinários em comparação aos grupos anteriores, com presença de fibras colágenas mais visíveis em ambos os terços radiculares (Figuras 1G/H e 2C).

No grupo HS/HC/EDTA foram evidenciados depósitos de hidróxido de cálcio em ambos os terços radiculares, porém, com maior predominância no terço cervical (escore 3), onde os túbulos dentinários apresentaram-se em grande parte recobertos. O terço médio (escore 2) também apresentou resíduos do material e túbulos recobertos. Não foi constatada a presença de erosão dentinária e poucas fibras colágenas foram expostas (Figuras 1I/J e 2D).

Nas amostras do grupo HS/TAPM/EDTA notou-se a presença de poucos detritos dispersos sobre a superfície dentinária, com quantidade moderada de túbulos dentinários expostos, e com o diâmetro menor, em ambos os terços radiculares (escore 2). Algumas áreas de erosão dentinária também se mostraram aparentes nas imagens (Figura 1K/L).

Já nas amostras do grupo HS/TAP/EDTA foi visível a remoção de detritos, com uma acentuada exposição de túbulos dentinários em ambos os terços radiculares (escore 1). Grandes áreas de exposição de fibras colágenas puderam ser identificadas, assim como áreas difusas de erosão dentinária (Figuras 1M/N e 2E).

A presença de algumas áreas de erosão dentinária, com acentuada remoção dos detritos dentinários, em comparação ao grupo controle, pode ser detectada nas amostras do grupo HS/DAP/EDTA. As amostras tratadas deste grupo receberam escore 1 tanto no terço médio, quanto no cervical. Os túbulos dentinários também se apresentaram amplamente expostos em ambos os terços. A presença de grande quantidade de fibras colágenas também pode ser identificada nas imagens obtidas (Figuras 1O/P e 2F).

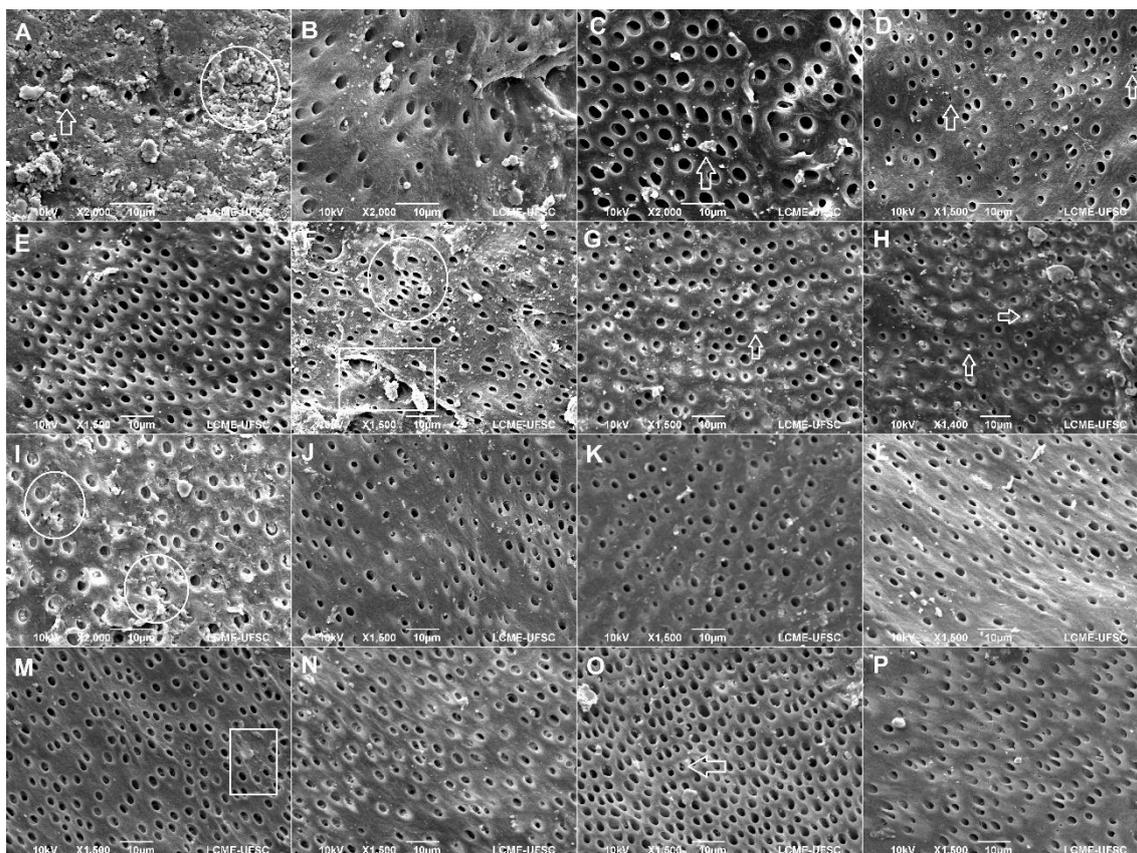


Figura 1. Eletromicrografias representativas das superfícies dentinárias após pré-tratamento com as diferentes associações entre soluções irrigadoras e pastas medicamentosas. (A) Grupo controle - terço cervical: Grande quantidade de detrito aderido ao substrato, obliterando a entrada dos túbulos dentinários (círculo). Túbulo dentinário exposto (seta). Aumento original, 2000 x. (B) Grupo controle - terço médio: Note a maior quantidade de túbulos dentinários expostos devido a menor quantidade de detritos. Aumento original, 2000 x. (C) Grupo HS - terço cervical: Ampla ausência de debris, com grande quantidade de túbulos dentinários expostos. Note a presença de pequena quantidade de detrito remanescente (seta). Aumento original, 2000 x. (D) Grupo HS - terço médio: Túbulos dentinário expostos, com presença de fibras colágenas (setas). Aumento original, 1500 x. (E) Grupo EDTA - terço cervical: Túbulos dentinários amplamente expostos, sem sinas de erosão do substrato. Aumento original, 1500 x. (F) Grupo EDTA - terço médio: Detritos remanescentes observados no terço médio das amostras (círculo). Note a exposição de fibras colágenas (indicação). Aumento original, 1500 x. (G e H) Grupo HS/EDTA - terços cervical/médio: Presença de pequenos cristais de sal (setas). Aumento original, 1500 x. (I) Grupo HS/HC/EDTA - terço cervical: Depósitos de hidróxido de cálcio (círculos) aderidos ao substrato dentinário. Aumento original, 1500 x. (J) Grupo HS/HC/EDTA - terço médio: Quantidade maior de túbulos dentinários expostos em comparação ao terço cervical no mesmo grupo. Aumento original, 1500 x. (K e L) Grupo HS/TAPM/EDTA - terços cervical/médio: Note a presença de poucos detritos dispersos sobre a superfície dentinária, com quantidade moderada de túbulos dentinários

expostos. Aumento original, 1500 x. (M e N) Grupo HS/TAP/EDTA - terços cervical/médio: Grande remoção de detritos, com uma acentuada exposição de túbulos dentinários em ambos os terços radiculares. Observe a presença de áreas difusas de erosão dentinária (indicação). Aumento original, 1500 x. (O) Grupo HS/DAP/EDTA - terço cervical: Acentuada remoção dos detritos dentinários, com exposição dos túbulos dentinários e fibras colágenas (seta). Aumento original, 1500 x. (P) Grupo HS/DAP/EDTA - terço médio: Ampla área com túbulos dentinários expostos, semelhante ao observado no terço cervical. Aumento original, 1500 x.

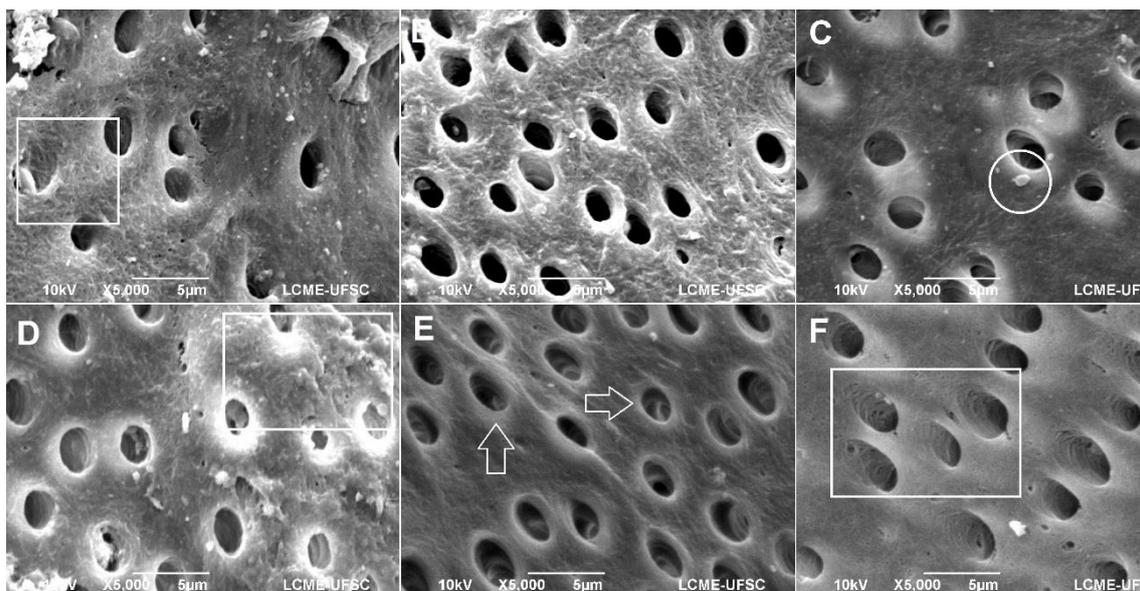


Figura 2. Eletromicrografias representativas das superfícies dentinárias após pré-tratamento com as diferentes associações soluções irrigadoras/pastas medicamentosas. (A) Grupo controle - terço médio: Área em maior aumento evidenciando presença de pequena quantidade de fibras colágenas expostas (indicação). Aumento original, 5000 x. (B) Grupo EDTA - terço médio: Note a maior quantidade de fibras colágenas expostas devido a remoção da camada mineral da superfície dentinária. Aumento original, 5000 x. (C) Grupo HS/EDTA - terço médio: Detalhe evidenciando a presença de pequenos cristais de sal (círculo) sobre a superfície dentinária. Aumento original, 5000 x. (D) Grupo HS/HC/EDTA - terço cervical: Depósitos de HC aderidos a superfície dentinária (indicação). Aumento original, 5000 x. (E) Grupo HS/TAP/EDTA - terço cervical: Ampla exposição de túbulos dentinários e fibras colágenas (setas). Aumento original, 5000 x. (F) Grupo HS/DAP/EDTA - terço médio: Note a presença de algumas áreas de erosão dentinária, entretanto, pode-se observar túbulos dentinários e fibras colágenas (indicação) amplamente expostas nesta amostra. Aumento original, 5000 x.

Discussão

Protocolos de tratamento endodôntico regenerativo visam inicialmente a desinfecção das paredes do canal radicular, seguido de sobre-instrumentação para formação de um coágulo, onde células progenitoras presentes induzirão o reparo do tecido pulpar (Banchs & Trope 2004, Garcia-Godoy & Murray 2012). Entretanto, o tratamento prévio da superfície dentinária é necessário, pois essa superfície servirá como substrato para as células que irão promover o processo de regeneração (Yassen *et al.* 2013a).

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de diferentes associações entre soluções irrigantes e pastas medicamentosas no pré-tratamento da dentina radicular durante um procedimento endodôntico regenerativo. Com base nos resultados obtidos, pode-se afirmar que a hipótese nula testada foi rejeitada, uma vez que os diferentes protocolos de tratamento aplicados promoveram alterações morfológicas diversas no substrato dentinário.

Quando as amostras do grupo controle (sem tratamento) foram comparadas com as amostras experimentais, a ação do HS a 1,5% e do EDTA a 17% (associados ou não) levaram a uma ampla exposição dos túbulos dentinários e fibras colágenas. Tal fato se deve ao alto poder de dissolução de matéria orgânica do HS, capaz de remover debris orgânicos da superfície dentinária, desobliterando a entrada dos túbulos (Hand *et al.* 1978). O mesmo pode ser dito em relação ao EDTA a 17%, uma vez que esse ácido age como quelante do tecido mineralizado, sequestrando íons cálcio da dentina e expondo suas fibras colágenas (Casagrande *et al.* 2010).

Entretanto, quando a superfície dentinária foi tratada com a associação HS 1,5% + EDTA a 17%, notou-se a presença de pequenos cristais na superfície, provavelmente sais, resultantes da interação entre as soluções irrigantes, conferindo um aspecto não tão limpo às amostras (Çalt & Serper 2002).

Vale ressaltar que tal associação promove tanto a remoção da parte orgânica, quanto inorgânica da superfície dentinária (Teixeira *et al.* 2005). Çalt & Serper (2002) demonstraram a presença de erosão dentinária quando o EDTA foi utilizado por períodos mais longos (por mais de 10 minutos). Porém, no presente estudo, foi adotado um protocolo de irrigação final mais curto (5 minutos), o que pode explicar a detecção de apenas algumas poucas áreas de erosão dentinária nas amostras analisadas (Teixeira *et al.* 2005).

Entre os grupos experimentais, o que teve suas amostras tratadas com a pasta medicamentosa à base de HC apresentou escores semelhantes ao grupo controle. Em ambos os terços radiculares os túbulos dentinários se apresentaram em sua maioria obliterados devido a presença de depósitos de HC remanescentes, mesmo após a irrigação final com EDTA a 17%. Deve-se ainda enfatizar que estudos já demonstraram que a utilização do HC por longos períodos pode levar a desnaturação da matriz colágena da dentina, devido ao seu pH alcalino e baixo peso molecular (Andreasen *et al.* 2006, Leiendecker *et al.* 2012, Yassen *et al.* 2013a), o que poderia comprometer a viabilidade de componentes celulares importantes para o processo de regeneração pulpar. Por outro lado, o HC é capaz de induzir a liberação de proteínas dentinárias, fundamentais para o sucesso de terapias endodônticas regenerativas (Tomson *et al.* 2007).

Já quando as amostras foram tratadas com as medicações à base de antibióticos, houve maior abertura e exposição dos túbulos dentinários em ambos os terços radiculares, em comparação aos grupos controle e HS/HC/EDTA. Amplas áreas de exposição de fibras colágenas, assim como de erosão dentinária também puderam ser observadas. No caso do grupo HS/TAP/EDTA, o baixo pH da pasta triantibiótica (pH=2,9), associado a capacidade da minociclina em quelar íons cálcio presentes no componente mineralizado da superfície dentinária potencializam o efeito desmineralizador dessa pasta, explicando os achados observados neste grupo (Yassen *et al.* 2013a).

Yassen *et al.* (2013a) reportaram que a pasta triantibiótica (HS/TAP/EDTA) tem uma capacidade desmineralizadora superior à da pasta diantibiótica (HS/DAP/EDTA), principalmente devido à presença da minociclina na pasta triantibiótica, e ao pH mais elevado da pasta diantibiótica (pH=3,4). Porém, os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que ambas as pastas foram capazes de promover alterações morfológicas semelhantes na superfície dentinária. A capacidade de desmineralização destas pastas tende a aumentar com o passar do tempo, atingindo seu ápice após quatro semanas de uso (Yassen *et al.* 2013a). No estudo de Yassen *et al.* (2013a), a concentração de fosfato/amida I na dentina atingiu seus níveis mais baixos decorrido este período, comprovando a capacidade de desmineralização semelhante de ambas

as pastas. No presente estudo, o período de armazenamento das amostras foi exatamente de quatro semanas semelhante ao realizado no estudo de Yassen *et al.* (2013a).

Os resultados observados no grupo HS/TAPM/EDTA sugerem uma menor capacidade de desmineralização desta pasta em comparação às pastas utilizadas nos grupos HS/TAP/EDTA e HS/DAP/EDTA. Supõe-se que a ausência da minociclina, substituída pela amoxicilina na pasta TAPM pode ter diminuído a sua capacidade desmineralizadora. Porém, os resultados obtidos com a pasta diantibiótica, que também não possui minociclina, mostram ao contrário, uma vez que os níveis de desmineralização neste grupo foram semelhantes ao da TAP. Apesar do menor nível de desmineralização observado neste estudo, Prather *et al.* (2014) demonstraram que pastas modificadas (sem minociclina) podem promover desmineralização e redução na microdureza da dentina semelhantes às pastas convencionais (com minociclina).

Em um estudo realizado por Ruparel *et al.* (2012), pastas di e triantibióticas, nas concentrações de 0,1 mg/mL e 0,01 mg/mL não promoveram efeitos adversos detectáveis sobre as células da papila apical, ao contrário das concentrações maiores dessas medicações. Por esta razão, tais concentrações foram adotadas neste estudo. Já o HC, em nenhuma das concentrações testadas, inclusive na maior delas (1mg/mL), teve efeito residual sobre estas células, aumentando sua proliferação e viabilidade.

O condicionamento prévio da superfície dentinária com EDTA a 17% pode aumentar significativamente a aderência e proliferação de células-tronco provenientes do tecido pulpar durante seu processo de regeneração (Galler *et al.* 2011). Entretanto, a exposição da superfície dentinária por longos períodos ao HC, ou a pastas antibióticas, pode levar à redução das características mecânicas desta, aumentando significativamente as chances de fratura radicular devido à desnaturação proteica, seguido da degradação do colágeno promovida pelo HC, e pelos altos índices de desmineralização promovidos pelas pastas antibióticas (Yassen *et al.* 2013a).

Apesar das limitações deste estudo *in vitro*, pode-se atestar que as pastas triantibiótica (TAP) e diantibiótica (DAP) foram as que mais promoveram mudanças morfológicas na superfície dentinária. No entanto, outros estudos são

necessários para elucidar os benefícios destas alterações na adesão, proliferação e viabilidade de células-tronco provenientes do tecido pulpar.

Referências

- Andreasen, JO, Munksgaard, EC, Bakland, LK (2006) Comparison of fracture resistance in root canals of immature sheep teeth after filling with calcium hydroxide or MTA. *Dental Traumatology* **22**, 154-6.
- Banchs, F, Trope, M (2004) Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? *Journal of Endodontics* **30**, 196-200.
- Casagrande L, Demarco FF, Zhang Z, Araujo FB, Shi S, Nor JE (2010) Dentin-derived BMP-2 and odontoblast differentiation. *Journal of Dental Research* **89**, 603-8.
- Çalt S, Serper A (2002) Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. *Journal of Endodontics*, **28**, 17-19.
- Diogenes AR, Ruparel NB, Teixeira FB, Hargreaves KM (2014) Translational science in disinfection for regenerative endodontics. *Journal of Endodontics* **40**, Suppl, S52-7.
- Galler KM, D'souza RN, Federlin M, Cavender AC, Hartgerink JD, Hecker S, Schmalz G (2011) Dentin conditioning codetermines cell fate in regenerative endodontics. *Journal of Endodontics*, **37**, 1536-41.
- Garcia-Godoy F, Murray PE (2012) Recommendations for using regenerative endodontic procedures in permanent immature traumatized teeth. *Dental Traumatology*, **28**, 33-41.
- Hand RE, Smith ML, Harrison JW (1978) Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. *Journal of Endodontics*, **4**, 60-64.
- Jung IY, Lee SJ, Hargreaves KM (2008) Biologically based treatment of immature permanent teeth with pulpal necrosis: a case series. *Journal of Endodontics*, **34**, 876-87.
- Kahler B, Rossi-Fedele G (2016) A review of tooth discoloration after regenerative endodontic therapy. *Journal of Endodontics*, **42**, 563-9.

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.

Leiendecker AP, Qi YP, Sawyer AN, Niu LN, Agee KA, Loushine RJ, Weller RN, Pashley DH, Tay FR (2012) Effects of calcium silicate-based materials on collagen matrix integrity of mineralized dentin. *Journal of Endodontics*, **38**, 829-33.

Lenzi R, Trope M (2012) Revitalization procedures in two traumatized incisors with different biological outcomes. *Journal of Endodontics*, **38**, 411-14.

Lovelace TW, Henry MA, Hargreaves KM, Diogenes (2011) Evaluation of the delivery of mesenchymal stem cells into the root canal space of necrotic immature teeth after clinical endodontic procedure. *Journal of Endodontics*, **37**, 133-8.

Nosrat A, Seifi A, Asgary S (2011) Regenerative endodontic treatment (revascularization) for necrotic immature permanent molars: a review and report of two cases with a new biomaterial. *Journal of Endodontics*, **37**, 562-7.

Prather BT, Ehrlich Y, Spolnik K, Platt JA, Yassen GH (2014) Effects of two combinations of triple antibiotic paste used in endodontic regeneration on root microhardness and chemical structure of radicular dentine. *Journal of Oral Science*, **56**, 245-51.

Ruparel NB, Teixeira FB, Ferraz CCR, Diogenes A (2012) Direct effect of Intracanal Medicaments on Survival of Stem Cells os the Apical Papilla. *Journal of Endodontics*, **38**, 1372-5.

Teixeira CS, Felipe MCS, Felipe WT (2005) The effect of application time of EDTA and NaOCl on intracanal smear layer removal: in SEM analysis. *International Endodontic Journal*, **38**, 285-90.

Thibodeau B (2009) Case report: pulp revascularization of a necrotic, infected, immature, permanent tooth. *Pediatric Dentistry*, **31**, 145-8.

Thibodeau B, Trope M (2007) Pulp revascularization of a necrotic, infected, immature, permanent tooth: case report and review of literature. *Pediatric Dentistry*, **29**, 47-50.

Tomson PL, Grover LM, Lumley PJ, Sloan AJ, Smith AJ, Cooper PR (2007) Dissolution of bio-active dentine matrix components by mineral trioxide aggregate. *Journal of Dentistry*, **35**, 636-42.

Trope M (2006) Treatment of immature teeth with non-vital pulps and apical periodontitis. *Dental Clinics of North America*, **54**, 51-9.

Trope M (2010) Treatment of immature teeth with non-vital pulps and apical periodontitis. *Endodontic Topics*, **14**, 313-24.

Yassen GH, Chu TM, Eckert G, Platt JA (2013a) Effect of medicaments used in endodontic regeneration technique on the chemical structure of human immature radicular dentin: an in vitro study. *Journal of Endodontics*, **39**, 269-73.

4. CONCLUSÃO

A utilização das pastas triantibiótica (TAP) e diantibiótica (DAP) por 4 semanas foram os protocolos que mais promoveram alterações na superfície dentinária. Assim como estas pastas, a utilização da pasta antibiótica modificada (MTAP) apresentou resultados razoáveis quanto a desmineralização. Entretanto, para a pasta à base de HC os achados foram semelhantes aos do grupo controle, onde nenhum tratamento foi realizado. Mais estudos são necessários para investigar melhor o efeito dessas pastas sobre a superfície dentinária, assim como possíveis efeitos adversos das mesmas sobre o substrato dental e, conseqüentemente, sobre a viabilidade de células-tronco provenientes do tecido pulpar.

5. REFERÊNCIAS

ALTHUMAIRY, R. I.; TEIXEIRA, F. B.; DIOGENES, A. Effect of conditioning with intracanal medicaments on survival of stem cells of apical papilla. **J. Endod.**, v. 40, n.4 p. 521-525, 2014.

AMERICAN ASSOCIATION OF ENDODONTICS. Regenerative Endodontics. American Association of Endodontists, Chicago; 2015. Available at: <http://www.aae.org/regenerativeendo/>

ANDERSSON, L. Epidemiology of traumatic dental injuries. **Pediatr. Dent.**, v. 35, n. 2, p. 102-105, 2013.

BANCHS, F.; TROPE, M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? **J. Endod.**, v. 30, n. 4, p.196-200, 2004.

BAUMGARTNER, J. C.; MADER, C. L. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. **J. Endod.**, v. 13, n.4, p. 147-157, 1987.

DEMARCO, F. F. et al. Effects of morphogen and scaffold porogen on the differentiation of dental pulp stem cells. **J. Endod.**, v. 36, n. 11, p. 1805-1811, 2010.

DIOGENES, A. et al. An update on clinical regenerative endodontics. **Endod. Topics**, v. 28, p. 24-37, 2013.

DIOGENES, A. R. et al. Translational science in disinfection for regenerative endodontics. **J. Endod.**, v. 40, n. 4, p. S52-S57, 2014.

GALLER, K. M., et al. Dentin conditioning codetermines cell fate in regenerative endodontics. **J. Endod.**, v. 37, n.11, p. 1536-1541, 2011.

GARCIA-GODOY, F.; MURRAY, P. E. Recommendations for using regenerative endodontic procedures in permanent immature traumatized teeth. **Dent. Traumatol.**, v. 28, n. 1, p. 33-41, 2012.

GRANDO MATTUELLA, L. et al. Vascular endothelial growth factor and its relationship with the dental pulp. **J. Endod.**, v. 33, n. 5, p. 524-530, 2007.

- IWAYA, S. I.; IKAWA, M.; KUBOTA, M. Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. **Dent; Traumatol.**, v. 17, n. 4, p. 185-187, 2001.
- JUNG, I. Y. et al. Biologically based treatment of immature permanent teeth with pulpal necrosis: a case series. **J. Endod.**, v. 34, n. 7, p. 876-887, 2008.
- LABBAN, N. et al. The direct cytotoxic effects of medicaments used in endodontic regeneration on human dental pulp cells. **Dent. Traumatol.**, v. 30, n. 6, p. 429-434, 2014.
- LENZI, R.; TROPE M. Revitalization procedures in two traumatized incisors with different biological outcomes. **J. Endod.**, v. 38, p. 411-414, n. 1, 2012.
- LOVELACE, T. W. et al. Evaluation of the delivery of mesenchymal stem cells into the root canal space of necrotic immature teeth after clinical endodontic procedure. **J. Endod.**, v. 37, n. 2, p. 133-138, 2011.
- MOHAMMADI, Z. Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. **Int. Dent. J.**, v. 58, n. 6, p. 329-341, 2008.
- NOSRAT, A.; SEIFI, A.; ASGARY, S. Regenerative endodontic treatment (revascularization) for necrotic immature permanent molars: a review and report of two cases with a new biomaterial. **J. Endod.**, v. 37, n. 4, p. 562-567. 2011.
- PETERSEN, P. E. et al. The global burden of oral diseases and risks to oral health. **Bull World Health Organ**, v. 83, n. 9, p. 661-669, 2005.
- PETRINO, J. A. et al. Challenges in regenerative endodontics: a case series. **J. Endod.**, v. 36, n. 3, p. 536-541, 2010.
- RAFTER, M. Apexification: a review. **Dent. Traumatol.**, v. 21, n. 1, p. 1-8, 2005.
- SAFAVI, K. E.; NICHOLS, F. C. Alteration of biological properties of bacterial lipopolysaccharide by calcium hydroxide treatment. **J. Endod.**, v. 20, n. 3, p. 127-129, 1994.
- SALEH, A. A.; ETTMAN, W. M. Effect of endodontic irrigation solutions on microhardness of root canal dentine. **J. Dent.**, v. 27, n. 1, p. 43-46, 1999.
- SAOUD, T. M. A. et al. Clinical and radiographic outcomes of traumatized immature permanent necrotic teeth after revascularization/revitalization therapy. **J. Endod.**, v. 40, n. 12, p. 1946-1952, 2014.
- THIBODEAU, B. Case report: pulp revascularization of a necrotic, infected, immature, permanent tooth. **Pediatr. Dent.**, v. 31, n. 2, p. 145-148, 2009.

THIBODEAU, B.; TROPE, M. Pulp revascularization of a necrotic, infected, immature, permanent tooth: case report and review of literature. **Pediatr. Dent.**, v. 29, n. 1, p. 47-50, 2007.

TROPE, M. Treatment of immature teeth with non-vital pulps and apical periodontitis. **Dent. Clin. North Am.**, v. 54, n. 1, p. 51-59, 2006.

TROPE, M. Treatment of immature teeth with non-vital pulps and apical periodontitis. **Endod. Topics**, v. 14, p. 313-324, 2010.

WIGLER, R. et al. Revascularization: a treatment for permanent teeth with necrotic pulp and incomplete root development. **J. Endod.**, v. 39, n. 3, p. 319-326, 2013.

YASSEN, G. H. et al. Effect of medicaments used in endodontic regeneration technique on the chemical structure of human immature radicular dentin: an in vitro study. **J. Endod.**, v. 39, n. 2, p. 269-273, 2013a.

YASSEN, G. H. et al. The effect of medicaments used in endodontic regeneration on root fracture and microhardness of radicular dentine. **Int. Endod. J.**, v. 46, n. 7, p. 688-695, 2013b.

YASSEN, G. H., ECKERT, G. J, PLATT, J. E. Effect of intracanal medicaments used in endodontic regeneration procedures on microhardness and chemical structure of dentin. **Restor. Dent. Endod.**, v. 40, n. 2, p. 104-112, 2015.

YILMAZ, S., DUMANI, A., YOLDAS, O. The effect of antibiotic pastes on microhardness of dentin. **Dent. Traumatol.**, v. 32, n. 1, p. 27-31, 2016.