UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

KLEBER CORTÊS BONIFÁCIO

TÉCNICAS ADESIVAS DE OBTURAÇÃO - AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA
QUANTITATIVA DA REPARAÇÃO APICAL E PERIAPICAL PÓS-
TRATAMENTO DE CANAIS RADICULARES DE DENTES DE CÃES COM
LESÃO PERIAPICAL

RIBEIRÃO PRETO

2013

KLEBER CORTÊS BONIFÁCIO

**TÉCNICAS ADESIVAS DE OBTURAÇÃO - AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA
QUANTITATIVA DA REPARAÇÃO APICAL E PERIAPICAL PÓS-
TRATAMENTO DE CANAIS RADICULARES DE DENTES DE CÃES COM
LESÃO PERIAPICAL**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Doutor em Ciências. Programa:
Odontopediatria.

Área de Concentração: Odontopediatria.

Orientadora: Profa. Dra. Léa Assed Bezerra da Silva

RIBEIRÃO PRETO

2013

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Bonifácio, Kleber Cortês

Técnicas Adesivas de Obturação - Avaliação Microscópica
Quantitativa da Reparação Apical e Periapical Pós-Tratamento
de Canais Radiculares de Dentes de Cães Com Lesão Periapical.
Ribeirão Preto, 2013.

102 p. : il. ; 30 cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Odontologia
de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Odontopediatria.

Orientador: Silva, Léa Assed Bezerra da.

1. Lesão periapical. 2. Cimentos obturadores de canal
radicular. 3. Técnicas adesivas.

Bonifácio KC. **Técnicas Adesivas de Obturação - Avaliação Microscópica Quantitativa da Reparação Apical e Periapical Pós-Tratamento de Canais Radiculares de Dentes de Cães Com Lesão Periapical.** Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de Concentração: Odontopediatria.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DADOS CURRICULARES

- Nascimento** 06 de dezembro de 1972, em Natal/RN.
- Filiação** Nivaldo Feitoza Bonifacio e Leda Cortes Bonifacio.
- 1989 - 1994** Graduação em Odontologia.
Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
- 1995 - 1997** Residência Odontológica em Endodontia.
Universidade de São Paulo. Bolsista da Fundação do Desenvolvimento Administrativo.
- 1998 - 2000** Mestrado em Endodontia.
Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP.
Título: Avaliação do ápice radicular em dentes de humanos com e sem vitalidade pulpar.
- 2009 - 2013** Doutorado em Odontopediatria.
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.
Título: Técnicas Adesivas de Obturação - Avaliação Microscópica Quantitativa da Reparação Apical e Periapical Pós-Tratamento de Canais Radiculares de Dentes de Cães Com Lesão Periapical.
- 2010** Professor Substituto na Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

DEDICO ESTE TRABALHO

À minha orientadora, **Profa. Léa Assed Bezerra da Silva**, um ser HUMANO de coração bom. Iluminada por DEUS. Uma cientista, que faz as coisas parecerem fáceis. A professora alimenta o sonho e o conhecimento dos que a cercam, sempre disposta a ajudar, sob todos os aspectos. Pessoa justa, íntegra, verdadeira, honesta, solícita, amiga. Uma líder NATA. Provavelmente, para senhora professora, esse seja mais um trabalho frente a sua vasta e qualificada produção científica. Porém, para mim, é uma oportunidade única na vida de poder dizer: sou Doutor pela Universidade de São Paulo. Obrigado professora, muito obrigado.

À **Professora Izabel Yoko Ito (*In Memorium*)**. Como a senhora fez e faz falta. Hoje, mais maduro, consigo entender sua forma peculiar de demonstrar o quanto gostava de mim. Nunca conseguiria retribuir o quanto a senhora foi boa. Ainda, me trazendo bons frutos. Aliás, sempre fazendo o bem para as pessoas ao seu lado. Amiga, mãe, orientadora, mentora, uma mestre. Obrigado por tudo professora. Deus com certeza guardou um lugar especial para a senhora.

À minha “nova” família (**Bere, Memell e Luquinha**). Como era difícil pegar o voo para Ribeirão. Graças ao incentivo constante de Carol, consegui chegar ao fim. Bere, você é minha melhor amiga. Companheira de verdade. Impossível sem você. Obrigado! Memell, é minha luz, motivo do meu sorriso, minha alegria, minha paz. A forma mais concreta de DEUS me dizer que eu sou um escolhido. Meu AMOR, Minha VIDA. Você e Luccinha são a minha fonte diária de energia. O equilíbrio da vida. Minha família que tanto amo. Amo os três.

À minha “antiga” família, que vou representar na pessoa do meu irmão **Artur**. Homem íntegro. Gente. Reto. Homem Bom. Quando quis esmorecer meu irmão, você apareceu. Você é a bandeira sólida da nossa casa. Orgulho de oito irmãos e de nossos pais. Representa a soma das virtudes mais sublimes ensinadas pelos nossos pais; e, edificadas em sentimento cristão. Amo você meu irmão! Amo todos meus irmãos! Amo você mamãe! Te amo papai! Obrigado por tudo.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A **DEUS**, PAI TODO PODEROSO. SEMPRE SUA PRESENÇA ME CONFORTA NOS MOMENTOS DE MAIOR ANGÚSTIA, SOLIDÃO, TRISTEZA, DIFICULDADE, DÚVIDA. COMO ÉS BOM COMIGO SENHOR. NÃO SEI SE MEREÇO TANTO, MAIS O SENHOR SEMPRE ME PROVÉM EM ABUNDÂNCIA. OBRIGADO DEUS MEU! CONTIGO, TUDO POSSO.

AO **PROF. PAULO NELSON FILHO**, FONTE INSPIRADORA DE TODOS NÓS. MODELO EXEMPLAR DE PROFESSOR, ORIENTADOR, PESQUISADOR, CLÍNICO. DE CARÁTER INTOCÁVEL. INTELIGÊNCIA E COMPETÊNCIA EXÍMIA. ÍNDOLE BOA. AMIGO **PAULO**, MINHA DÍVIDA COM O SENHOR, PROFESSOR, É ETERNA, ESPERO UM DIA COMEÇAR A PAGAR. OBRIGADO PELO ONTEM, PELO HOJE, E PELO AMANHÃ. SEREI ETERNAMENTE GRATO.

À **PROFA RAQUEL ASSED BEZERRA SEGATO**, CONHECI MENINA. CRESCEU, VIROU MULHER, CIENTISTA, PROFESSORA, AMIGA. QUANTO TE EXPLOREI RAQUEL, DESABAFANDO MINHAS ANGÚSTIAS, SOFRIMENTOS, DÚVIDAS, TRISTEZAS. SEMPRE SOLÍCITA A ESCUTAR MINHAS BESTEIRAS. VOCÊ, RAQUEL, É UM EXEMPLO DE SUCESSO, DETERMINAÇÃO E SUPERAÇÃO. MEU MUITO OBRIGADO. QUE DEUS LHE DÊ EM DOBRO, O QUE VOCÊ E SUA FAMÍLIA ME PROPORCIONARAM TODOS ESTES ANOS.

AO AMIGO **PROF. FRANCISCO WANDERLEY GARCIA DE PAULA E SILVA**, FACE DE MENINO, ATITUDES DE GIGANTE. TENHO CERTEZA ABSOLUTA QUE JAMAIS CHEGARIA AO FIM SEM SUA AJUDA REAL, OBJETIVA, CLARA. COMO DISCÍPULO DA PROFA. **LÉA**, DO PROF. **PAULO**, DA PROFA. **SADA** E OUTROS DO DEPARTAMENTO, NÃO SE PODERIA ESPERAR NADA DE DIFERENTE. SER HUMANO COMPETENTÍSSIMO, BRILHANTE, PARCEIRO, CORDIAL, GENTIL. MUITO OBRIGADO **FRANCISCO**, QUE DEUS CONTINUE OLHANDO PARA VOCÊ, SEU DESTINO JÁ ESTÁ BEM TRAÇADO.

AO AMIGO **MARCO ANTONIO DOS SANTOS (MESENGA)**, VOCÊ É UMA PESSOA DE DEUS. ACHO QUE NUNCA EXPRESSEI, O QUANTO É GRANDE MEU CARINHO E GRATIDÃO POR VOCÊ. OBRIGADO MEU AMIGO, VOCÊ ACONCHEGA OS QUE LHE RODEAM. QUANTA BONDADE. ESPERO UM DIA PODER RETRIBUIR UM POUCO DA SUA ATENÇÃO PARA COMIGO.

AO AMIGO **PROF. ETEVALDO MATOS MAIA FILHO**. MOLEQUE VOCÊ É AQUELE QUE A GENTE PODE REALMENTE CHAMAR DE AMIGO. OBRIGADO PELO CONSTANTE APOIO AO LONGO DESTES ANOS. COMPLETAMOS MAIS DE QUINZE ANOS DE AMIZADE, E SEMPRE PUDE TER SEU APOIO CIENTÍFICO OU NÃO. JÁ FALHEI DIVERSAS VEZES COM VOCÊ, MAS VOCÊ NUNCA DESISTIU DE MIM. AMIGO, SE TIVESSE UM ÚNICO SENTIMENTO QUE EXPRESSASSE O QUE SINTO POR VOCÊ, SERIA O AMOR. OBRIGADO POR TUDO AMIGÃO.

A TODOS OS OUTROS PROFESSORES DA DISCIPLINA, **PROFA. ANDIARA, PROFA. SADA, PROFA. ALDEVINA, PROFA. ALEXANDRA, PROFA. CRISTINA, PROFA. KRANYA**, SEMPRE SOLÍCITOS A AJUDAR. ESPÍRITO DE UNIÃO, INTEGRIDADE E RESPEITO. OBRIGADO POR DESFRUTAR DE UM APRENDIZADO TÃO SALUTAR. PELA OPORTUNIDADE ÚNICA E CONHECIMENTOS ADQUIRIDOS.

AO **PROF. MÁRIO ROBERTO LEONARDO**, EXCELÊNCIA NA CAPACIDADE DE FORMAR DISCÍPULOS. UM FORMADOR DE OPINIÕES. UM PROFESSOR, MESTRE, PESQUISADOR, MOTIVO DE INSPIRAÇÃO DE TODOS NÓS. OBRIGADO.

À MEU SOBRINHO **DR. MARCEL**, MENINO DE OURO, MEU IRMÃO CAÇULA, QUE TÁ SEMPRE ME APOIANDO QUANDO PRECISO. QUE A LUZ DIVINA ESTEJA SEMPRE IRRADIANDO SEUS PASSOS E ATITUDES, E VOCÊ CONTINUE TRANSBORDANDO BONDADE, SIMPLICIDADE E SOLIDARIEDADE POR ONDE ANDA. SEU TIO VAI ESTAR SEMPRE AO SEU LADO. TE AMAMOS.

À MEU IRMÃO **HELDER**, EXEMPLO DE BONDADE, SUPERAÇÃO, DETERMINAÇÃO, PERSEVERANÇA. VOCÊ É UM EXEMPLO E ESTÍMULO PARA TODOS NÓS QUE TE AMAMOS E ADMIRAMOS. SEM SUA PRESENÇA, JAMAIS REALIZARIA O SONHO DE UMA CLÍNICA TÃO LINDA. OBRIGADO PUTO.

À MINHA IRMÃ QUERIDA **CACÁ**, QUE COMO LHE É DE COSTUME, ABRE MÃO DE SEUS PERTENCES PESSOAIS EM PRÓ DO PRÓXIMO. JAMAIS TERMINARIA ESTE TRABALHO SEM SEU COMPUTADOR. OBRIGADO QUERIDA IRMÃ, QUE DEUS LHE DÊ EM DOBRO. TE AMO.

A ALGUMAS PESSOAS EM ESPECIAL: **MILENA, RENATINHA, LEYZE, GRACILDA**, EQUIPE DE APOIO, QUE ME DÁ A TRANQUILIDADE NECESSÁRIA DE AUSENTAR-ME TEMPORARIAMENTE, QUANDO ESTÃO A CUIDAR DAS COISAS MAIS PRECIOSAS QUE POSSUO: A FAMÍLIA E O TRABALHO. QUE DEUS LHES PROPORCIONE CADA VEZ MAIS UMA VIDA MELHOR, POIS VOCÊS MERECEM; E QUE EU POSSA ESTAR PERTO PARA TAMBÉM DESFRUTAR DE SUAS VITÓRIAS E CONQUISTAS. MEU MUITO OBRIGADO.

AOS MEUS CUNHADOS **FÁBIO E FABRÍCIO**, E AOS AMIGOS **MAXUEL E DUDA**, QUE TORNARAM AGRADÁVEL MINHA ESTADIA E ME ACOLHERAM NESTA CIDADE TÃO HOSPITALEIRA. OBRIGADO PELA CONVIVÊNCIA HARMONIOSA E AGRADÁVEL.

À MINHA SOGRA **EULÁLIA**, QUE COM SEU JEITO PARTICULAR DE SER, É PRESENÇA CONSTANTE NAS NOSSAS VIDAS. AJUDANDO, CUIDANDO, DANDO CARINHO, SEM MEDIR ESFORÇOS. MUITO OBRIGADO.

AOS COLEGAS QUE ME PRESTIGIAM E CONFIAM NO MEU TRABALHO, EM ESPECIAL AO MEU AMIGO **DR. ROBERTO ALADIM E DRA. VILMA JALES**. PESSOAS BOAS E COMPETENTES COMO VOCÊS SÃO EXEMPLOS A SEREM SEGUIDOS. MUITO OBRIGADO.

AGRADECIMENTOS

À FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO, NA PESSOA DO PROF. DR. VALDEMAR MALLET DA ROCHA BARROS QUE COM MUITA COMPETÊNCIA FAZ DESTA INSTITUIÇÃO DE ENSINO UMA DAS MELHORES DO PAÍS.

À COMPETENTE E RESPONSÁVEL FUNCIONÁRIA DA PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOPEDIATRIA, SRA. **MICHEL**, MUITO OBRIGADO.

AOS FUNCIONÁRIOS DA DISCIPLINA DE CLÍNICA INFANTIL, EM ESPECIAL, A **FÁTIMA (ARAÚJO), FILOMENA, MATHEUS, NILZA**, SEMPRE UM CLIMA MUITO AGRADÁVEL E SAUDÁVEL A CONVIVÊNCIA COM VOCÊS.

AOS MEUS COLEGAS DE TURMA, **MILENA, MARCELA, LEONARDO, MARTA, CRISTINA, LARISSA, WALTER, GISELLE, ANA ZILDA, MAYA, CLAUDIA**, EM ESPECIAL, À **MARINA**, OBRIGADO PESSOAL PELA CONVIVÊNCIA SAUDÁVEL E COMPANHERISMO.

ÀS FUNCIONÁRIAS DA PÓS-GRADUAÇÃO, **ISABEL, REGIANE E MARY**, SEMPRE DISPOSTAS A AJUDAR, ESCLARECER E FACILITAR NOSSA CAMINHADA AO LONGO DO CURSO.

AOS FUNCIONÁRIOS DESTA FACULDADE, COMO UM TODO, PELA RECEPTIVIDADE E APOIO DURANTE ESTA JORNADA.

AOS MEUS PACIENTES QUE ME PROPORCIONARAM E ESTIMULAM O MEU CRESCIMENTO PROFISSIONAL.

Trabalho realizado no Laboratório de Histologia e Microscopia do Departamento de Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, sob a orientação da Profa. Dra. Léa Assed Bezerra da Silva, com apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – **FAPESP** (processo 08/02776-8).

RESUMO

BONIFÁCIO KC. Técnicas adesivas de obturação - Avaliação microscópica quantitativa da reparação apical e periapical pós-tratamento de canais radiculares de dentes de cães com lesão periapical [tese]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, 2013. 102 f.

O objetivo deste estudo foi avaliar quantitativamente, *in vivo*, a resposta dos tecidos apicais e periapicais de dentes de cães com lesão periapical crônica, induzida experimentalmente, após tratamento de canal radicular e obturação endodôntica empregando os seguintes cimentos: EndoREZ, Real Seal e Sealapex. Canais radiculares não obturados (curativo de demora) foram utilizados como controle. Após a obtenção de lesões periapicais experimentalmente induzidas, os dentes foram submetidos à abertura coronária, neutralização do conteúdo necrótico, preparo biomecânico, curativo de demora com uma pasta à base de hidróxido de cálcio (Calen) e obturação dos canais radiculares com os diferentes cimentos obturadores citados. Decorridos os períodos de 30 e 90 dias, os animais foram mortos e o material submetido ao processamento histotécnico. A análise microscópica pelo método quantitativo de avaliação foi realizada em microscópio Axio Imager.M1 (Zeiss), acoplado a uma câmera AxioCam MRc5 (Zeiss). Foi registrada a descrição completa das características dos tecidos apicais e periapicais e efetuada a quantificação do número de células inflamatórias e das extensões das áreas da lesão periapical em mm², a presença de reabsorção óssea e a presença de selamento biológico apical, em imagens microscópicas obtidas de cortes histológicos corados por hematoxilina e eosina, utilizando o Software AxioVision Rel.4.6 (Automatic Measurements Programs – Program Wizard). Os valores obtidos foram avaliados quanto ao tipo de distribuição e comparados por meio da análise de variância (ANOVA), seguido pelo pós-teste de Tukey, com nível de significância de 5%. A presença e extensão do infiltrado inflamatório além da metade do ligamento periodontal foi observada em todos os cimentos avaliados, tanto no período de 30 quanto 90 dias, sendo predominantemente mononuclear. Não houve modulação do infiltrado inflamatório em nenhum dos cimentos, pois a quantidade de células inflamatórias foi semelhante em ambos os períodos, 30 e 90 dias ($p>0,05$). Em relação as áreas de reabsorções óssea e radicular, nos cimentos EndoREZ e Real Seal, a presença foi de aproximadamente 50% dos casos aos 90 dias; enquanto no cimento Sealapex, as mesmas estiveram presentes em 30% dos casos tanto aos 30 quanto aos 90 dias. A extensão da lesão periapical foi semelhante em ambos períodos experimentais (30 e 90 dias), em todos os cimentos avaliados. Por fim, selamento biológico foi observado aos 90 dias, em, aproximadamente, 20%, 30% e 50% dos casos nos cimentos EndoREZ, Real Seal e Sealapex, respectivamente; e em 15% dos casos, no período de 30 dias, apenas no cimento do Sealapex. Dentro das limitações deste experimento, pode-se concluir que os cimentos resinosos EndoREZ e Real Seal, não foram bem tolerados pelos tecidos apicais e periapicais. Ainda, reparo dos tecidos apicais, com deposição de cimento, foi encontrado nos dentes obturados com o cimento Sealapex, embora não tenha sido observado reparo total das lesões periapicais.

Palavras-chave: Lesão periapical; Cimentos obturadores de canal radicular; Técnicas adesivas.

ABSTRACT

BONIFÁCIO KC. Adhesive root canal filling techniques – A quantitative microscopic evaluation of apical and periapical repair after root canal treatment of dog's teeth with periapical lesion [thesis]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, 2013. 102 f.

The aim of this study was to evaluate quantitatively, *in vivo*, the response of apical and periapical tissues of dog's teeth with experimentally induced chronic periapical lesion, after endodontic treatment and root canal filling using the following sealers: EndoREZ, Real Seal and Sealapex. Non-filled root canals (intracanal dressing) were used as control. After induction of the experimental periapical lesions, the teeth were subjected to coronal access, neutralization of the necrotic content, biomechanical preparation, placement of an intracanal dressing with a calcium hydroxide paste (Calen), and root canal filling with the different endodontic sealers mentioned above. After 30 and 90 days, the animals were euthanized and the material was subjected to histotechnical processing. A quantitative microscopic analysis was performed using an Axio Imager.M1 (Zeiss) microscope coupled to an AxioCam MRc5 (Zeiss) camera. A complete description of the characteristics of the apical and periapical tissues was performed and the number of inflammatory cells, size of the periapical lesions (in mm²), presence of bone resorption and presence of sealing of the apical opening with mineralized tissue deposition was determined on microscopic images obtained from hematoxylin and eosin-stained histological sections, using the Software AxioVision Rel.4.6 (Automatic Measurements Programs – Program Wizard). Data were examined for their distribution and the compared using analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's post-test with a 5% significance level. Presence and extension of an inflammatory infiltrate, predominantly mononuclear, beyond half of the periodontal ligament was observed for all sealers, at both 30-day and 90-day periods. There was no modulation of the inflammatory infiltrate for any of the sealers because the number of inflammatory cells was similar at both 30-day and 90-day periods ($p>0.05$). Bone and radicular resorption areas were found in approximately 50% of the cases at 90 days for EndoREZ and Real Seal, and in 30% of the cases at the 30-day and 90-day periods for Sealapex. The periapical lesion size was similar at both experimental periods (30 and 90 days) for all evaluated sealers. Finally, sealing of the apical opening with mineralized tissue deposition was observed at 90 days in approximately 20%, 30% and 50% of the cases for EndoREZ, Real Seal and Sealapex, respectively; and in 15% dos cases, at the 30-day period, only for Sealapex. Within the limitations of this experiment, it may be concluded that the resin-based sealers EndoREZ and Real Seal were not well tolerated by the apical and periapical tissues. Periapical tissue repair, with cementum deposition, was found in the teeth filled with Sealapex, although complete repair of the periapical lesions was not observed.

Key-Words: Periapical Lesion; Root canal-filling materials; Root Canal Adhesive Filling.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Materiais utilizados no presente estudo, distribuição do número de dentes para cada grupo e períodos experimentais.....	39
--	----

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	27
PROPOSIÇÃO.....	33
MATERIAL E MÉTODO	37
RESULTADOS	47
DISCUSSÃO	71
CONCLUSÕES	89
REFERÊNCIAS.....	93

INTRODUÇÃO

Um dos objetivos do tratamento endodôntico de dentes com necrose pulpar e presença de lesão periapical, visível radiograficamente, é a eliminação dos microrganismos presentes e seus produtos e subprodutos de todo sistema endodôntico, bem como obter um vedamento tridimensional do canal radicular (Kazemi et al., 1993; Wu et al., 2002; Schafer et al., 2003; Bouillaguet et al., 2007), proporcionado pela obturação endodôntica, criando um ambiente biológico favorável para que se processe a reparação dos tecidos apicais e periapicais pós-tratamento (Behrend et al., 1996; Sritharan, 2002; Leonardo et al., 2007). Por outro lado, uma das propriedades mais importantes do material obturador é a sua compatibilidade biológica, uma vez que irá permanecer em íntimo contato com tecidos vivos, por um longo período de tempo (Leonardo et al., 1993; 1994; 1995; 2007; Trope et al., 1999; Garcia et al., 2010), devendo permitir a deposição de tecido mineralizado ao nível foraminal (Holland; Souza, 1985; Leonardo, 2005a; Suzuki et al., 2010) ou estimular a formação do mesmo.

A obturação do sistema de canais radiculares, ao longo dos anos, tem sido realizada utilizando um material sólido associado a um cimento obturador em estado plástico visando obter um selamento perfeito e tridimensional, hermético e impermeável, sem agredir os tecidos apicais e periapicais. Como material em estado sólido, a gutta-percha vem sendo amplamente utilizada desde sua introdução na prática endodôntica por Bowman, em 1867, devido às suas excelentes propriedades físico-químicas e biológicas. Para o procedimento de obturação dos canais radiculares, a gutta-percha é empregada em associação com cimentos obturadores que, de acordo com a composição, podem ser classificados como à base de óxido de zinco e eugenol, à base de hidróxido de cálcio, à base de ionômero de vidro, à base de silicone e à base de resina adesiva (Leonardo, 2005a; Schwartz, 2006).

Dentre os cimentos à base de hidróxido de cálcio, o Sealapex (SybronEndo, Glendora, CA), introduzido no Brasil em 1984 (Leonardo, 2005a), destaca-se entre o mais utilizado nos últimos anos. A principal propriedade deste cimento é atribuída a sua capacidade de promover um selamento apical “biológico” do ápice radicular quando em contato com o coto periodontal, provavelmente, devido à liberação em maior quantidade de íons de cálcio (Silva, 1995), característica importante no processo de mineralização tecidual. Leonardo et al. (1997) comparando a eficácia deste cimento com outros à base de hidróxido de cálcio, no tocante ao reparo apical e periapical, no tratamento endodôntico de dentes de cães com vitalidade pulpar, mostraram um completo selamento biológico em 37,5% dos dentes tratados, ausência de infiltrado inflamatório e ausência de reabsorção óssea, sendo superior aos demais cimentos testados. Ainda, sua comprovada atividade antimicrobiana quando do tratamento endodôntico de dentes de cães com presença de lesão periapical, foi

demonstrada pelo menor número de microrganismos observados nos cortes histológicos corados pelo método de Brown-Brenn, juntamente com maior deposição de tecido mineralizado na região apical (Tanomaru Filho, 1996). Dessa maneira, a utilização deste cimento para análise comparativa da resposta tecidual dos tecidos apicais e periapicais frente a outros cimentos endodônticos, torna-se rotineiro em pesquisas de biocompatibilidade (Leonardo et al., 1994, 1995, 1997, 1999, 2003).

A aplicação clínica dos cimentos resinosos seria justificada, principalmente, pela capacidade destes aderirem a dentina radicular, melhorando o selamento marginal das obturações endodônticas, propriedade essencial para a manutenção da integridade dos tecidos apicais e periapicais a longo prazo, à medida que impediria a progressão de microrganismos, produtos e subprodutos destes, bem como substratos capazes de levar a reinfecção de canais radiculares (Leonardo, 2005a).

Ainda, propriedades como a força de adesão desses cimentos à guta-percha (Lee et al., 2002; Tagger et al., 2003) e parede do canal radicular (Eldeniz et al., 2003; Lee et al., 2002; Gesi et al., 2005), ausência de dissolução frente a fluidos teciduais (Shipper et al., 2004; Pommel et al., 2003), radiopacidade adequada (Leonardo, 2005a), e atividade antimicrobiana (Leonardo et al., 2000); se aliadas a excelentes propriedades biológicas, no tocante a integridade dos tecidos apicais e periapicais após a utilização destes, poderiam justificar a utilização universal de cimentos resinosos, em detrimento de cimentos à base de óxido de zinco e eugenol ou mesmo hidróxido de cálcio.

De uma maneira geral, o maior questionamento da real aplicabilidade clínica desses cimentos resinosos, deve-se à sua incapacidade de formar uma verdadeira camada híbrida no interior do canal radicular, maior característica de materiais resinosos utilizados na odontologia restauradora (Schwartz, 2006), e da necessidade de estudos adicionais, incluindo a avaliação da reparação apical e periapical de dentes com vitalidade pulpar, ou dentes com ou sem lesão periapical; tendo em vista que os resultados de estudos biológicos realizados com os primeiros cimentos resinosos lançados no mercado, contendo a resina epóxica como principal componente químico, tem apresentado resultados desfavoráveis à utilização dos mesmos (Almeida, 1997; Cohen et al., 2000; Huang et al., 2002; Sousa et al., 2006; Al-Hiyasat et al., 2010; Silva-Herzog et al., 2011).

Uma nova geração de cimentos resinosos vem sendo desenvolvida, dentre eles o cimento EndoREZ (Ultradent – Products, Inc. South Jordan, Utah – USA), o qual apresenta propriedade adesiva hidrofílica, adequada a dentina de canal radicular, contendo óxido de zinco, sulfato de bário, pigmentos, e uma matriz resinosa de uretano dimetacrilato, na concentração de 30%, como ingrediente ativo (Zmener, 2004; Rueda, 2006). Observações

preliminares revelaram que o EndoREZ apresenta capacidade seladora em presença de umidade e penetração nos túbulos dentinários (Becce; Pameijer, 2001; Paul et al., 2007; Zmener et al., 2008; Lee et al., 2011), possui radiopacidade semelhante aos cones de guta-percha e não necessita do uso de adesivo dentinário (Zmener, 2004), possuindo moderada citotoxicidade *in vitro* (Bouillaguet et al., 2004; Scarparo et al., 2009). É um cimento composto de pasta base e catalisadora, dispensados numa seringa por meio de um misturador, e introduzidos no canal radicular através de ponta específicas, chamadas de NaviTip. O fabricante recomenda a introdução do material próximo ao ápice radicular, podendo ser utilizado isoladamente como cimento obturador, pela técnica do cone único de guta-percha ou do cone de guta-percha recoberto pela resina (Rueda, 2006), ou ainda pela técnica clássica com condensação lateral.

Alguns trabalhos têm sido publicados com o uso desse material, relacionados à sua capacidade seladora (Herbert et al., 2009; Lee et al., 2011; Pereira et al., 2007), e biocompatibilidade, particularmente, em dentes de cães com vitalidade pulpar (Rueda, 2006; Suzuki et al., 2010), em implantes intra-ósseos (Rueda, 2006; Souza et al., 2006), e em tecido subcutâneo (Scarparo et al., 2009; Zmener et al., 2010), evidenciando resultados desfavoráveis do ponto de vista biológico. No entanto, Zmener e Pameijer (2007), em estudo clínico em humanos, com preservação de 5 anos, demonstraram excelentes resultados clínico-radiográficos quando da utilização deste cimento associado à guta-percha, com 90% de sucesso clínico-radiográfico. Em 2010, Zmener e Pameijer, continuaram avaliando clínica e radiograficamente, o mesmo grupo de pacientes do estudo anterior (Zmener; Pameijer, 2007), após período de 8 anos de preservação. Para tal, o sucesso foi definido como ausência de sinais e sintomas clínicos, presença do espaço do ligamento periodontal normal ou levemente espessado, e a ausência ou substancial redução no tamanho da lesão periapical quando pré-existente. A taxa de sucesso foi de 86,5%, sendo sugerido pelos autores que o cimento EndoREZ associado a cones de guta-percha apresenta resultados semelhantes aos cimentos endodônticos convencionalmente utilizados.

Em face dessa discordância de resultados de estudos clínicos-radiográficos com os estudos histopatológicos, em diferentes modelos experimentais, expostos acima; e ainda, partindo do pressuposto que os biomateriais a serem utilizados em pacientes deveriam necessariamente passar por diferentes etapas de investigação científica, que se assemelhem ao máximo o uso em seres humanos, julgamos ser necessário a convalidação de resultados biológicos do cimento EndoREZ, antes de indicá-lo para uso clínico em pacientes.

Recentemente foi introduzido no comércio especializado um sistema obturador endodôntico à base de resina hidrofílica que utiliza um primer, condicionante de dentina, ou

autocondicionante, no qual o *primer*, o adesivo e a resina vem em único frasco. Esse sistema consiste na associação do cimento obturador de canal à base de uretano-dimetacrilato com polimerização dual, o Real Seal ou Real Seal SE (SybronEndo, Sybron Dental Specialties, Orange, CA, USA) e de cones de poliéster vinil, com polímero de metacrilato, partículas de vidro e opacificadores, conhecidos como Resilon (Pentron Clinical Technologies, LLC, Wallingford, CT), que de acordo com o fabricante, quando unidos, formariam um monobloco de dentina/adesivo/material obturador (Shrestha et al., 2010), tornando o dente com canal tratado mais resistente frente aos esforços mastigatórios (SybronEndo, Sybron Dental Specialties, Orange, CA, USA).

Alguns estudos avaliando algumas propriedades físico-químicas do sistema Real Seal quando da obturação dos canais radiculares, tem demonstrado resultados controversos. Apesar da excelente capacidade de selamento e adesividade conforme apresentado por alguns autores (Shipper et al., 2005; Tunga; Bodrumlu, 2006; Stratton et al., 2006; Leonardo et al., 2007; Bouillaguet et al., 2008; Kqiku et al., 2010), baixa força de adesão tem sido observada entre o Real Seal e os cones de Resilon (Gesi et al., 2005; Tay et al., 2006), fator essencial para a formação do monobloco resina/cones/dentina sugerido pelo fabricante. Em relação às propriedades biológicas, também se verifica divergências na literatura. Apesar de resultados negativos mostrando citotoxicidade em diferentes estudos com cultura de células (Lee et al., 2011; Heitman et al., 2008; Camargo et al., 2009); biocompatibilidade tem sido relatada em tecido subcutâneo de rato (Campos-Pinto et al., 2008; Onay et al., 2007); em implantes intra-ósseos (Souza et al., 2006); região periapical de dentes de cães (Brasil et al., 2010; Leonardo et al., 2007) e avaliação clínico-radiográfica em dentes de humanos (Debelian, 2006; Conner et al., 2006).

Em função da importância da obturação dos canais radiculares para o sucesso do tratamento endodôntico, e a tendência da utilização universal de cimentos resinosos para tal, torna-se importante avaliar a biocompatibilidade destes novos materiais obturadores, em modelos experimentais que simulem situações clínicas, como por exemplo, no tratamento endodôntico de dentes com necrose pulpar e lesão periapical, previamente, a sua ampla indicação na clínica endodôntica.

PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente projeto foi avaliar quantitativamente, *in vivo*, a resposta dos tecidos apicais e periapicais de dentes de cães com lesão periapical crônica induzida experimentalmente, após tratamento de canal radicular empregando os cimentos obturadores Endo-Rez, Sistema Real Seal e Sealapex nos períodos de 30 e 90 dias.

MATERIAL E MÉTODO

O presente estudo foi conduzido de acordo com as normas da *International Organization for Standardization* (ISO) nº 7405:2008. Foram selecionados os 2^{os} e 3^{os} pré-molares superiores e os 2^{os}, 3^{os} e 4^{os} pré-molares inferiores de 8 cães provenientes de uma mesma ninhada, sem raça definida, de ambos os gêneros, com 12 meses de idade e pesando, em média, 15 quilos. Foram utilizados 70 dentes (140 raízes) distribuídos em 8 grupos, conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1 - Materiais utilizados no presente estudo, distribuição do número de dentes para cada grupo e períodos experimentais

Grupo	Material Obturador	Número de dentes (raízes)	Período Experimental
I	Endo-Rez	10 dentes (20 raízes)	30 dias
II	Sistema Real Seal	10 dentes (20 raízes)	30 dias
III	Sealapex	10 dentes (20 raízes)	30 dias
IV	Curativo de demora	5 dentes (10 raízes)	30 dias
V	Endo-Rez	10 dentes (20 raízes)	90 dias
VI	Sistema Real Seal	10 dentes (20 raízes)	90 dias
VII	Sealapex	10 dentes (20 raízes)	90 dias
VIII	Curativo de demora	5 dentes (10 raízes)	90 dias

Os animais receberam vermífugos (Drontal® Puppy – Bayer – São Paulo – Brasil) e vitaminas (Glicopan® Pet - Vetnil Indústria e Comércio de Produtos Veterinários Ltda – Louveira – Brasil) e foram aplicadas vacinas anti-rábica (Rai-Vac I® – Fort Dodge – Campinas – Brasil) e Duramune (Fort Dodge – Campinas – Brasil), em 3 doses, com 3 semanas de intervalo entre cada aplicação. Os cães foram mantidos no Biotério da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, com livre acesso à água e dieta padrão da Unidade durante todo o período de experimentação.

Anestesia inalatória

Inicialmente os animais foram pré-anestesiados, por meio de injeção por via endovenosa de 1mg/kg de peso de Neozine (Aventis), 15 minutos antes do ato operatório. Em seguida, foi realizada a indução da anestesia com Zoetil® 50 (Virbac do Brasil) na dosagem de 0,1ml/kg de peso, por via endovenosa, para facilitar a passagem da sonda endotraqueal, necessária para realizar a anestesia inalatória.

Após a intubação com sonda endotraqueal, a manutenção da anestesia foi realizada com Isoflurano (Abbott Laborat. Do Brasil Ltda. – Rio de Janeiro – RJ), utilizando o aparelho para anestesia inalatória Takaoka KT-20 (São Paulo – SP). Durante todo o ato operatório, os animais foram mantidos com solução isotônica de cloreto de sódio a 0,9% (Glicolabor Indústria Farmacêutica Ltda. – Ribeirão Preto – Brasil).

Procedimentos operatórios

A seguir, foi efetuado o exame radiográfico periapical dos dentes utilizados no estudo, utilizando o dispositivo para padronização de tomadas radiográficas em cães, descrito por Cordeiro et al. (1995), para que fossem obtidas radiografias padronizadas, passíveis de futuras comparações. Foram utilizados filmes periapicais Ultraspeed® – tamanho 2 (Eastman Kodak Company – Rochester – USA), aparelho de raios-X odontológico Heliodont® (Siemens – New York – USA), com 60 kVp e 10 mA e tempo de exposição de 1 segundo. As radiografias foram reveladas pelo método tempo/temperatura e arquivadas em cartelas plásticas.

Todo o instrumental utilizado nos procedimentos operatórios foi esterilizado em autoclave a 121°C, por 20 minutos (Souza-Gugelmin et al., 2005). A profilaxia dental foi realizada com o objetivo de remover cálculo e biofilme, seguida pela anestesia infiltrativa complementar com Scandicaine® a 4% com adrenalina 1:100.000 – Septodont).

Indução de lesões periapicais visíveis radiograficamente

Foram induzidas lesões periapicais nos 70 dentes selecionados para o estudo, de acordo com a técnica preconizada por Leonardo et al. (1993), como descrito a seguir. A abertura coronária oclusal foi realizada nos dentes selecionados utilizando pontas diamantadas esféricas número 1015 (K.G. Sorensen – São Paulo – Brasil) montadas em caneta de alta rotação, refrigeradas a ar e água, sendo, a seguir, substituídas por pontas tronco-cônicas, de extremidade inativa nº 3082 (K.G. Sorensen – São Paulo – Brasil). Foram

realizadas duas aberturas oclusais, uma mesial e outra distal, mantendo-se a ponte de esmalte vestibulo-lingual, com o objetivo de prevenir fraturas coronárias.

Foi realizada a remoção da polpa coronária com cureta, irrigação da câmara pulpar com hipoclorito de sódio a 2,5%, seguida da exploração do canal radicular com uma lima do tipo K nº 15 (Dentsply/Maillefer – Suíça), até ser sentida a sua parada no platô apical, o qual se localiza aproximadamente a 2 mm do ápice radicular.

Em seguida, foi realizada a tomada radiográfica periapical, pela técnica da bisettriz, objetivando-se realizar a odontometria para a obtenção do Comprimento Real do Dente (CRD) e, conseqüentemente, o Comprimento Real de Trabalho (CRT). Determinada a odontometria e após o descolamento da polpa radicular, foi efetuada sua remoção com uma lima Hedström de ponta romba, no CRT. Após a remoção da polpa radicular, com o objetivo de contaminação, os canais radiculares permaneceram expostos ao meio bucal, durante 7 dias quando então, sob nova anestesia geral, foi realizada a remoção dos resíduos da câmara pulpar com auxílio de curetas e de irrigação com água destilada. Após a secagem e colocação de uma mecha de algodão na câmara pulpar, foi efetuado o selamento coronário com cimento à base de óxido de zinco e eugenol (IRM® – Dentsply Indústria e Comércio Ltda. – Petrópolis – RJ – Brasil).

Após 30 dias do selamento provisório, foram realizados controles radiográficos quinzenais, até serem observadas imagens radiolúcidas, sugestivas de lesão periapical crônica, as quais geralmente ocorreram após 45 dias. Após constatação das imagens radiolúcidas, sugestivas de lesões periapicais crônicas experimentalmente induzidas, os dentes selecionados foram isolados com dique de borracha, sendo realizada a anti-sepsia do campo operatório com peróxido de hidrogênio a 3%, seguida pela aplicação de digluconato de clorexidina a 2,0%.

Neutralização do conteúdo séptico-tóxico e preparo biomecânico dos canais radiculares

O cimento provisório e a mecha de algodão da câmara pulpar foram removidos e os canais radiculares submetidos à neutralização imediata do conteúdo séptico-tóxico aplicando o princípio coroa/ápice, de acordo com Leonardo (2005b), sendo empregadas limas tipo K, introduzidas no canal radicular progressivamente, com diminuição gradativa de diâmetros, acompanhadas pela irrigação/aspiração e nova inundação com solução de hipoclorito de sódio a 2,5%.

Realizada a odontometria e determinado o CRD, foi efetuado o desbridamento foraminal com limas tipo K de nºs 15, 20, 25 e 30, sendo esta última lima designada de Instrumento Apical Foraminal (IAF), utilizada para padronização do diâmetro de abertura

apical dos dentes em estudo. Na mesma sessão foi realizado o preparo biomecânico, empregando instrumentos de níquel-titânio do Sistema Protaper Universal (Dentsply/Maillefer): $S_X-D_0 = 0,19\text{mm}/D_{14}=1,19\text{mm}$, $S_2 - D_0=0,20\text{mm}/D_{14}=1,2\text{mm}$, $F_2-25/.08$, $F_3 - 30/.09$, $F_4 - 40/.06$, $F_5 - 50/.05$, até o CRT, estabelecido aproximadamente a 1mm aquém do ápice radiográfico. Os canais radiculares foram ampliados, a partir do Instrumento Apical Final (último instrumento rotatório) até a lima tipo K de nº 70. Após a utilização de cada instrumento, foi realizada irrigação/aspiração/inundação dos canais radiculares com solução de hipoclorito de sódio a 2,5%.

Terminado o preparo biomecânico, uma lima tipo K nº 30 (IAF) foi novamente utilizada em todo CRD, para remoção de possíveis raspas de dentina e resíduos acumulados na região do forame apical, em decorrência do preparo biomecânico. Após nova irrigação e aspiração, os canais radiculares foram secos com pontas de papel absorvente esterilizadas e, a seguir, inundados com solução de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 17%, tamponado em pH 7,4 até o CRT e agitado por 3 minutos. Após irrigação copiosa com solução de hipoclorito de sódio a 1% para neutralização do EDTA, foi realizada a secagem por aspiração e uso de pontas de papel absorvente, de calibre compatível com o diâmetro do último instrumento utilizado no CRT.

Curativo de demora entre sessões

Após irrigação e secagem dos canais radiculares, os mesmos foram preenchidos com a pasta à base de hidróxido de cálcio (Calen[®] – S.S. White Artigos Dentários Ltda. – Rio de Janeiro – RJ – Brasil), com o auxílio da seringa rosqueável ML (S.S. White Artigos Dentários Ltda. – Rio de Janeiro- Brasil) e agulha longa 27G (Septoject XL – Septodont – França), com tope de borracha, na medida do CRT. Com a finalidade de proporcionar seu contato com a superfície apical externa, foi realizado um pequeno extravasamento da pasta, sendo realizadas tomadas radiográficas para a comprovação do preenchimento total dos canais radiculares e do extravasamento. Após a colocação de uma mecha de algodão esterilizada na entrada dos canais radiculares, foi realizado o selamento coronário com cimento à base de ionômero de vidro (Vidrion R – S.S.White Art. Dent. Ltda. – Rio de Janeiro – Brasil), por 14 dias.

Decorrido este período, o curativo foi removido por meio de irrigações sucessivas com soro fisiológico, sendo então novamente empregada a solução de EDTA a 17% por 3 minutos, seguida do uso de soro fisiológico e secagem dos canais com pontas de papel absorvente. Os canais radiculares foram divididos em 6 grupos experimentais (20 canais radiculares, cada) e 2 grupos controle (10 raízes cada), como especificado na Tabela 1.

Para que todas as variáveis fossem testadas em um mesmo animal, e em diferentes quadrantes, cada hemi-arco recebeu, em sistema de rodízio distribuído ao acaso, os diferentes cimentos obturadores a serem avaliados, sendo seguidas as instruções dos fabricantes para sua manipulação e uso clínico.

Obturação dos Canais Radiculares

- Grupos I e V: os canais radiculares foram obturados com o cimento EndoREZ (Ultradent – Products, Inc. South Jordan, Utah – EUA) e cones de guta-percha. Foi utilizada a técnica clássica modificada, na qual o cimento foi manipulado de acordo com as instruções do fabricante e levado ao interior do canal radicular envolvendo o cone de guta-percha principal (Resin Coated Gutta Percha – Endo-Rez Points .02 Taper Assorted) com um único movimento. A utilização dos cones de guta-percha auxiliares foi realizada por meio da técnica da condensação lateral ativa, com o auxílio de espaçador digital tamanho C (Dentsply/ Maillefer – Suíça) de 21mm de comprimento, sendo utilizados cones de guta percha auxiliares de tamanho XF (Dentsply Ind. Com. Ltda. – Petrópolis – RJ), até que fosse obtida a completa obturação do canal radicular, confirmada radiograficamente.

- Grupos II e VI: os canais radiculares foram obturados com o Sistema Real Seal SE (SybronEndo, Sybron Dental Specialties, Orange, CA, USA). Foi realizada a seleção do cone principal de resina Resilon (Pentron Clinical Technologies, Wallingford, CT, USA) de diâmetro compatível com o último instrumento empregado no Comprimento Real de Trabalho durante o preparo biomecânico, e a comprovação radiográfica da escolha clínica do mesmo. Para a obturação dos canais radiculares foram utilizados os passos da técnica recomendados pelo fabricante.

- Grupos III e VII: os canais radiculares foram obturados com o cimento Sealapex (SybronEndo, Glendora, CA, USA) e cones de guta-percha. A técnica de obturação foi a mesma descrita para os Grupos I e V.

- Grupos IV e VIII (Controles): após a realização do preparo biomecânico e utilização do curativo de demora, pelo mesmo período, isto é 14 dias, as cavidades oclusais foram novamente abertas; os canais radiculares submetidos a irrigação/aspiração com solução de NaOCl 2,5%; aplicação de EDTA 17%, por três minutos, conforme técnica descrita, anteriormente; secagem dos canais com pontas de papel absorvente; e novo preenchimento dos canais radiculares com mesmo curativo de demora (Calen[®] – S.S. White Artigos Dentários Ltda. – Rio de Janeiro – RJ – Brasil), e mesma técnica de aplicação; permanecendo nos canais radiculares pelo período de 30 (Grupo IV) e 90 dias (Grupo VIII).

Após o corte do excesso da obturação e a condensação vertical, as câmaras pulpare foram limpas com mechas de algodão esterilizadas umedecidas em álcool, sendo os dentes restaurados com amálgama de prata (Velvalloy – S.S.White Art. Dent. Ltda. – Rio de Janeiro – RJ) condensado sobre uma base de cimento de ionômero de vidro (Vidrión R – 3M- Brasil). Nos grupos que permaneceram com curativo de demora, após a colocação de uma mecha de algodão esterilizada na entrada dos canais radiculares, foi realizado o mesmo procedimento restaurador.

Após o término dos procedimentos operatórios foi efetuado o exame radiográfico e a aplicação de analgésico (Cloridrato de Tramadol - Teuto), na dosagem de 3mg/kg de peso, por via endovenosa, a cada 12 horas, durante 2 dias. Os animais foram acompanhados durante todo o período experimental para observação de mudanças de hábitos alimentares, desenvolvimento de processos inflamatórios ou supuração dos tecidos, dentre outras anormalidades.

Decorridos os períodos experimentais de 30 dias (Grupos I, II, III e IV) e 90 dias (Grupos V, VI, VII e VIII), as hemi-arcadas foram radiografadas, da mesma maneira descrita anteriormente, e os animais foram submetidos à eutanásia, como descrito abaixo:

1. Os animais foram submetidos à tranquilização com Neozine (Aventis) injetável, na dosagem de 1 mg /kg de peso.
2. Após 15 minutos, foi efetuada a anestesia com Tiopental endovenoso, na dosagem de 25 mg /kg de peso, injetado lentamente.
3. Em seguida, foi efetuada a eutanásia com cloreto de potássio a 20%, endovenoso, na dosagem de 100mg/kg de peso, injetado lentamente.

As maxilas e mandíbulas foram dissecadas, com auxílio de um bisturi, reduzidas em seu volume e as peças lavadas em água corrente. Para facilitar o processamento histotécnico, as peças foram seccionadas utilizando discos diamantados, sob constante

refrigeração com água, sendo obtidos blocos das peças anatômicas contendo os dentes individualmente.

Processamento histotécnico

As peças foram submetidas à fixação em solução de formol tamponado a 10%, por 72 horas, à temperatura ambiente. Posteriormente, as peças foram imersas em um recipiente de vidro contendo uma solução à base de EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) a 10%, composta de EDTA (EDTA Disodium Salt Dihydrate – Merck — Darmstadt Alemanha), água destilada e hidróxido de sódio 0,1N (Hidróxido de Sódio p.a.[®] – Casa da Química Ind. e Com. Ltda – Diadema – Brasil) e submetidas à desmineralização, acelerada pelo forno micro-ondas (Sharp Carousel[®] – São Paulo – Brasil). Para a realização deste procedimento, o recipiente contendo as peças foi parcialmente imerso em outro recipiente de vidro contendo água e gelo, com o objetivo de retardar o aumento da temperatura e, conseqüentemente, incrementar o tempo de ação das micro-ondas. O forno de micro-ondas operou na frequência de trabalho de 2450MHz, correspondendo a uma frequência de onda no vácuo de 12,2cm, potência máxima nominal de 700W, regulado em potência média/máxima à temperatura de 30°C para evitar alterações teciduais. As peças foram irradiadas por 10 minutos, com intervalos de 5 minutos entre as irradiações, por um período de 4 horas/dia. No intervalo entre os dias, o material permaneceu na solução desmineralizadora sem agitação, à temperatura ambiente.

A completa desmineralização das amostras, avaliada por meio da penetração de uma agulha nos tecidos para verificação da sua consistência e por meio de exame radiográfico das peças, foi obtida em aproximadamente 30 dias. Concluída a desmineralização, as peças foram neutralizadas em solução de sulfato de sódio a 5% (Sulfato de Sódio Anhído – J.T.Baker – Xalostoc – México) por 24 horas, lavadas em água corrente por 24 horas, desidratadas em concentrações crescentes de álcool (Álcool Etílico Absoluto Anhidro[®] - J.T. Baker – Xalostoc – México), diafanizadas em xilol (Xylo[®] - Merck – Darmstadt – Alemanha) e incluídas em parafina (Histosec[®] Pastillen – Merck – Darmstadt – Alemanha), de acordo com a rotina histotécnica. Os blocos contendo os dentes individualizados foram reduzidos pela microtomia a cortes seriados longitudinais com 5,0µm de espessura. Para avaliação microscópica, as lâminas foram coradas pela Hematoxilina e Eosina (HE).

Método Quantitativo de Avaliação Microscópica

A análise microscópica foi realizada em microscópio AXIO IMAGER.M1 (Zeiss), acoplado a uma câmera AXIOCAM MRC5 (Zeiss), sem conhecimento prévio do grupo ao qual o espécime analisado pertencia. Foi registrada a descrição completa das características dos tecidos apicais e periapicais e, em seguida, foi efetuada a quantificação do número de células inflamatórias e das extensões das áreas da lesão periapical, em mm².

1) Intensidade do Infiltrado Inflamatório

A avaliação da intensidade da reação inflamatória periapical foi realizada por meio da contagem das células inflamatórias presentes na região periapical, em imagens microscópicas de cortes histológicos corados pela Hematoxilina e Eosina (HE). A contagem foi efetuada por meio do uso do Software AXIOVISION REL.4.6 (Automatic Measurements Programs), no aumento de 63x.

2) Extensão da Área (mm²) da Lesão Periapical

A análise da extensão da área da lesão periapical foi realizada em fotografias obtidas de cortes histológicos corados pela Hematoxilina e Eosina (HE), calculada em milímetros quadrados, no Software AXIOVISION REL.4.6 (Automatic Measurements Programs – Program Wizard), no aumento de 1,25x.

3) Presença de reabsorção óssea

A presença de reabsorção óssea foi avaliada por meio da atribuição dos escores: (0) ausente e (1) presente.

Análise Estatística dos Resultados Histopatológicos

Os valores quantitativos obtidos nos diferentes grupos foram avaliados quanto ao tipo de distribuição e comparados por meio da análise de variância (ANOVA), seguido pelo pós-teste de Tukey, ao nível de significância de 5%. A presença / ausência de reabsorção óssea foi avaliada por meio do Teste Exato de Fisher, ao nível de significância de 5%.

RESULTADOS

EndoREZ (Grupos I e V)

Na região periapical, o infiltrado inflamatório estendia-se além da metade do ligamento periodontal apical e era composto predominantemente por células mononucleadas sendo observados poucos neutrófilos, tanto aos 30 como aos 90 dias após a obturação dos canais radiculares. Os macrófagos apresentavam partículas do material obturador em seu citoplasma. Não houve modulação da inflamação periapical tendo em vista que a quantidade de células inflamatórias foi semelhante aos 30 e aos 90 dias ($p > 0,05$; Figuras 1, 2 e 10). Nestes grupos foram observadas áreas de reabsorção radicular apical e de reabsorção óssea em mais de 50% dos casos, tanto aos 30 como aos 90 dias ($p > 0,05$; Figura 11). A extensão da lesão periapical foi semelhante nos dois períodos avaliados ($p > 0,05$; Figura 9). Selamento biológico parcial foi evidenciado em menos de 20% dos espécimes somente aos 90 dias após a obturação dos canais radiculares (Figura 12).

Real Seal (Grupos II e VI)

Na região periapical, o infiltrado inflamatório estendia-se além da metade do ligamento periodontal apical e era composto predominantemente por células mononucleadas com presença de neutrófilos, tanto aos 30 como aos 90 dias após a obturação dos canais radiculares. Não houve modulação da inflamação periapical tendo em vista que a quantidade de células inflamatórias foi semelhante aos 30 e aos 90 dias ($p > 0,05$; Figuras 3, 4 e 10). Aos 30 dias foram observadas áreas de reabsorção radicular apical e de reabsorção óssea em 75% dos casos, com diminuição da prevalência para 50% aos 90 dias ($p < 0,05$; Figura 11). A extensão da lesão periapical foi semelhante nos dois períodos avaliados, embora tenha sido observada uma tendência à diminuição da lesão periapical ($p > 0,05$; Figura 9). Selamento biológico parcial foi evidenciado em 30% dos espécimes somente aos 90 dias após a obturação dos canais radiculares (Figura 12).

Sealapex (Grupos III e VII)

Na região periapical, o infiltrado inflamatório estendia-se além da metade do ligamento periodontal apical e era composto por células mononucleadas e neutrófilos, tanto aos 30 como aos 90 dias após a obturação dos canais radiculares. Também foi possível observar, nos casos de extravasamentos, a presença de macrófagos e células gigantes multinucleadas em contato com o material. Não houve modulação da inflamação periapical tendo em vista que a quantidade de células inflamatórias foi semelhante aos 30 e aos 90 dias ($p > 0,05$; Figuras 5, 6 e 10). Nestes grupos foram observadas áreas de reabsorção radicular apical e de reabsorção óssea em aproximadamente 30% dos casos, tanto aos 30

como aos 90 dias ($p > 0,05$; Figura 11). A extensão da lesão periapical foi semelhante nos dois períodos avaliados ($p > 0,05$; Figura 9). Selamento biológico parcial foi evidenciado em 15% dos espécimes aos 30 dias após a obturação dos canais radiculares e em mais de 50% dos casos aos 90 dias (Figura 12).

Curativo de demora – controle (Grupos IV e VIII)

Na região periapical, aos 30 dias o infiltrado inflamatório estendia-se além da metade do ligamento periodontal apical e era composto predominantemente por células mononucleadas. Aos 90 dias houve diminuição do número células inflamatórias na região periapical ($p < 0,05$) e havia presença de fibras no ligamento periodontal com característica de normalidade (Figuras 7 e 8). A mensuração da área da lesão permitiu evidenciar que houve regressão da lesão periapical dos 30 aos 90 dias ($p < 0,05$; Figura 9). Aos 30 dias foram observadas áreas de reabsorção radicular apical e de reabsorção óssea em aproximadamente 30% dos casos, com diminuição da prevalência aos 90 dias ($p < 0,05$; Figura 11). Selamento biológico parcial foi evidenciado em 75% dos espécimes tanto aos 30 quanto aos 90 dias após a colocação do curativo de demora (Figura 12).

Figura 1 - Imagens representativas dos espécimes obturados com o cimento Endo-Rez (30 dias). HE 4x (A), 10x (B), 40x (C, D).

Figura 2 - Imagens representativas dos espécimes obturados com o cimento Endo-Rez (90 dias). HE 1,25x (A), 10x (B), 20x (D), 40x (C).

Figura 3 - Imagens representativas dos espécimes obturados com o cimento Real Seal (30 dias). HE 4x (A), 10x (B), 40x (C), 20x (D).

Figura 4 - Imagens representativas dos espécimes obturados com o cimento Real Seal (90 dias). HE 4x (A), 20x (B, C).

Figura 5 - Imagens representativas dos espécimes obturados com o cimento Sealapex (30 dias). HE 1,25x (A), 10x (B), 40x (C, D).

Figura 6 - Imagens representativas dos espécimes obturados com o cimento Sealapex (90 dias). HE 1,25x (A), 10x (B), 40x (C, D).

Curativo (30 dias)

Figura 7 - Imagens representativas dos espécimes não obturados (Curativo de demora - 30 dias). HE 1,25x (A), 20x (B), 40x (C, D).

Figura 8 - Imagens representativas dos espécimes não obturados (Curativo de demora - 90 dias). HE 4x (A), 10x (B), 40x (C, D).

Figura 9 - Média e desvio-padrão da medida da área da lesão periapical em mm², 30 e 90 dias após obturação dos canais radiculares com os cimentos endodônticos EndoREZ, Real Seal, Sealapex. Curativo de demora representa o grupo controle.

Figura 10 - Média e desvio-padrão do número de células inflamatórias por campo de visão, no aumento de 63x, 30 e 90 dias após obturação dos canais radiculares com os cimentos endodônticos EndoREZ, Real Seal, Sealapex. Curativo de demora representa o grupo controle.

Figura 11 - Porcentagem de espécimes com reabsorção óssea, 30 e 90 dias após obturação dos canais radiculares com os cimentos endodônticos EndoREZ, Real Seal, Sealapex. Curativo de demora representa o grupo controle.

Figura 12 - Porcentagem de espécimes com selamento biológico, 30 e 90 dias após obturação dos canais radiculares com os cimentos endodônticos EndoREZ, Real Seal, Sealapex. Curativo de demora representa o grupo controle.

DISCUSSÃO

Da Metodologia

Do modelo animal experimental

A introdução de um novo material, aparelho ou técnica a ser utilizada na Odontologia, particularmente na Endodontia necessita de avaliação prévia em diferentes modelos experimentais de estudo, até que possam ser aplicados na clínica. Em relação aos cimentos endodônticos, aplicam-se testes *in vitro* para avaliação da toxicidade destes; posteriormente, testes *in vivo* utilizando animais como modelo experimental; e, por fim, acompanhamento de estudos clínico-radiográficos realizados em humanos para atestar a biocompatibilidade desses materiais com os tecidos periapicais e o sucesso dos tratamentos a longo prazo (Stanley HR. Toxicity testing of dental materials. United States. CRC Press, 1985).

Ainda, de acordo com a ISO 7045 (2008), previamente à indicação para uso clínico, em seres humanos, todos os materiais e técnicas devem ser avaliados por meio de estudos *in vitro* e *in vivo*, em diferentes modelos experimentais. Sabendo-se do íntimo contato dos materiais de obturação endodôntica, cones ou cimentos, com os tecidos apicais e periapicais, a composição destes materiais tem papel fundamental na capacidade de permitir ou induzir a reparação destes tecidos, em outras palavras a biocompatibilidade destes é fundamental para o sucesso da técnica endodôntica (Leonardo et al., 1998). Com relação à avaliação da biocompatibilidade, segundo Browne (1994), o ideal seria que as respostas dos tecidos apicais e periapicais, frente aos diferentes materiais de uso endodôntico, pudessem ser analisadas por meio de estudos histopatológicos efetuados em humanos. No entanto, esta avaliação exigiria a remoção da porção apical radicular e região periapical adjacente, não sendo condizente com as normas do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos. Dessa forma, faz-se necessária a utilização de modelos animais que permitam a análise microscópica da resposta tecidual.

No entanto, o modelo animal selecionado para experimentação deve preencher determinados requisitos para que os resultados obtidos possam ser extrapolados para o homem. O padrão mastigatório, a resistência à infecção, o tamanho e a morfologia dental devem ser semelhantes ao homem. Além disso, o padrão de crescimento deve permitir a obtenção de respostas em pequenos intervalos de tempo (Rowe, 1980; Tanomaru, 2004).

A seleção do cão como modelo experimental, neste estudo, baseou-se em inúmeros trabalhos anteriores, que afirmaram ser este o animal no qual as estruturas dentais, assim como os processos de reparação apical e periapical, são os que mais se assemelham aos do homem. São animais de fácil obtenção, de manutenção viável economicamente, facilmente

anestesiados e com resistência a prolongados períodos de sedação (Citrome et al., 1979; Holland; Souza, 1985; Bonetti Filho, 1990; Soares et al., 1990; Silva, 1991, 1995; Leonardo et al. 1994, 1995, 1997; Tanomaru Filho, 1996).

Além disso, embora a avaliação da resposta dos tecidos periapicais frente aos cimentos avaliados não tenha sido realizada em humanos, os diferentes eventos histopatológicos avaliados nos cães [intensidade do infiltrado inflamatório, extensão da área (mm^2) da lesão periapical e reabsorção óssea] se reproduzem em humanos e, pela padronização do experimento, servem como análise comparativa dos diferentes materiais avaliados (Brasil et al., 2010).

Da seleção dos dentes

Os dentes de cães utilizados neste experimento foram os segundos e terceiros pré-molares superiores e os segundos, terceiros e quartos pré-molares inferiores, selecionados por apresentarem semelhança anatômica entre eles, igual número de raízes e fácil diferenciação das mesmas quando do exame radiográfico, além de possuírem canais radiculares amplos e retos, que permitem maior padronização dos procedimentos técnicos durante o tratamento endodôntico e processamento histopatológico (Soares et al., 1990; Silva, 1991, 1995; Leonardo et al., 1994, 1995; Tanomaru Filho, 1996, 1998).

Ainda, os pré-molares, apresentando uma raiz mesial e outra distal, permitem que os canais radiculares possam ser atingidos, sem destruição excessiva da coroa dental, mantendo-se a cúspide oclusal central, considerada como área de reforço e de oclusão e, assim, diminuindo a ocorrência de fraturas coronárias (Silva, 1991, 1995; Leonardo et al. 1994, 1995, 1997, 1999, 2003; Tanomaru Filho, 1996; Tanomaru Filho et al., 1998). Os canais radiculares dos pré-molares de cães, comumente empregados em pesquisa apresentam um delta apical com várias ramificações diferindo do ápice radicular do dente humano, o qual possui normalmente um forame principal e algumas foraminas. Com a finalidade de se obter uma condição experimental mais próxima a do dente humano, e para permitir padronização da abertura foraminal e do volume de materiais empregados no tratamento endodôntico, em contato com a região periapical, foi realizado arrombamento do ápice radicular dos dentes de cães com limas tipo K manuais de aço inoxidável, iniciando-se com a de número 15, até a de número 30. A escolha deste diâmetro para a realização do arrombamento apical foi baseada em trabalhos prévios da literatura, ou seja, pesquisas onde foram utilizadas limas tipo K até a de nº 30 (Bonetti Filho, 1990; Soares et al., 1990; Leonardo et al., 1994, 1995, 1997, 1999, 2003; Silva, 1995; Tanomaru Filho et al., 1998).

Partindo do pressuposto que o mesmo procedimento técnico, de criação de um forame artificial e manutenção da patência apical, foi realizada em todos os grupos experimentais, a análise comparativa dos diferentes materiais, nos diferentes períodos avaliados, torna-se respaldada cientificamente (Leonardo et al., 1994, 1995, 1997, 1999, 2003, 2007; Brasil et al., 2010).

Da Indução das lesões periapicais

A avaliação do efeito dos diferentes cimentos endodônticos na reparação dos tecidos apicais e periapicais em dentes com lesão periapical, torna-se mais relevante, em função destes apresentarem índices de sucesso do tratamento endodôntico menores que dentes com vitalidade pulpar ou dentes com necrose pulpar sem lesão periapical (Sjogren et al., 1997). Dessa maneira, conforme metodologia empregada por Leonardo et al., em 1993, e reproduzida por inúmeros experimentos posteriores (Leonardo et al., 1994, 1995, 1997, 1999, 2003), a formação das lesões periapicais tornaram-se visíveis radiograficamente após 45 dias.

Ainda, considerando-se uma das propriedades ideais dos cimentos endodônticos a capacidade de impedir a penetração de microrganismos ou produtos e subprodutos destes, através da massa de obturação endodôntica, ou entre esta e a parede do canal radicular (Schwartz, 2006); bem como possuir efetiva atividade antimicrobiana frente as espécies comumente encontradas no sistema de canais radiculares (Leonardo et al., 1994, 1995; Schwartz, 2006), a relevância do presente estudo torna-se ampliada.

Da técnica de tratamento empregada

Antes do preparo biomecânico propriamente dito, realizou-se a neutralização progressiva do conteúdo séptico-tóxico do sistema de canais radiculares, com solução irrigadora de NaOCl 2,5% e lima tipo k no sentido coroa-ápice (Leonardo, 2005b), removendo dessa maneira a maior massa de microrganismos localizadas no terço cervical, médio e apical, respectivamente, reduzindo assim a possibilidade de extrusão apical de microrganismos, produtos e subprodutos destes, para os tecidos periapicais (Leonardo et al., 1994, 1995). Em seguida, o preparo biomecânico foi realizado pelo uso da instrumentação rotatória, pelo sistema ProTaper, o que facilita a padronização dos preparos biomecânicos, a medida que elimina variáveis como operador e tipo de cinemática empregada dos instrumentos manuais nos canais. Ainda, tendo os instrumentos do sistema ProTaper, parte

ativa com ângulo de corte positivo e progressivo ângulo helicoidal, a qualidade da limpeza e modelagem do preparo biomecânico é mais eficiente, com maior sucesso clínico que as técnicas de instrumentação manual com limas de aço inoxidável (Cheung; Liu, 2009).

A ampliação final do batente apical foi realizada com lima tipo k manual, de acordo com Leonardo e Leal, 2005, baseado, principalmente, no fato de que os canais radiculares dos pré-molares dos cães apresentam fácil acesso, sendo retos e amplos, permitindo a utilização de instrumentos mais calibrosos. A ampliação da porção apical dos canais radiculares com diâmetro superior a uma lima de número 30 ou maior, aumenta o acesso de substâncias químicas, soluções irrigadoras e medicações intracanaís para o terço apical do canal, permitindo uma maior limpeza desta região (Baugh; Wallace, 2005; Khademi; Yazdizadeh; Feizianfard, 2006).

A solução irrigadora utilizada neste estudo foi a solução de hipoclorito de sódio a 2,5% (Solução de Labarraque), preconizada por Leonardo e Leal, 2005, para tratamento de canais radiculares de dentes com necrose pulpar e lesão periapical e irrigação final com uso da solução de EDTA a 17% por três minutos, sob agitação, para remoção do *smear layer*. Essa associação, além de comprovada eficácia na eliminação ou redução do número de microrganismos presentes em canais infectados pós-tratamento endodôntico (Leonardo et al., 1994), mostra-se capaz de reduzir em 98,06% a quantidade de endotoxina presente após término do preparo biomecânico, quando associada à instrumentação rotatória (Martinho et al., 2010). Ainda, o uso do EDTA 17%, rotineiramente utilizado em protocolos para desinfecção de canais radiculares, para auxiliar na remoção do *smear layer*, reduz a colonização e adesão de microrganismos Gram negativos a dentina radicular (Yang; Bae, 2002).

A aplicação de curativo de demora à base de hidróxido de cálcio, por 14 dias, mostra-se altamente eficaz frente ao tratamento das lesões periapicais crônicas, apresentando melhores resultados histopatológicos e microbiológicos (Leonardo et al., 1994), e maiores índices de sucesso clínico-radiográfico (Trope et al., 1999), que o tratamento endodôntico de dentes com lesão periapical em única sessão, isto é, sem uso do curativo de demora.

Antes da obturação endodôntica, para remoção da solução de EDTA 17%, foi feita uma irrigação final dos canais radiculares com solução de soro fisiológico, conforme recomendação dos fabricantes. Como os cimentos avaliados foram resinosos, adesão destes à parede dentinária torna-se afetada pela alta reatividade oxidativa da solução de NaOCl, que torna a camada de dentina rica em oxigênio, na qual reduziria a força de adesão dos cimentos resinosos pela inibição da polimerização das resinas à base de metacrilato (De Deus et al., 2008). Após irrigação final, os canais foram secos com ponta de papel

absorvente, os cimentos manipulados conforme orientação dos fabricantes, e a técnica clássica modificada associada a condensação lateral foi empregada para obturação dos canais radiculares, padronizando a mesma técnica intergrupos; ao mesmo tempo que é permitida pelos fabricantes sem nenhum tipo de restrição.

Do processamento laboratorial para análise microscópica

Após o período experimental, os animais foram submetidos à eutanásia com sobredose anestésica para a remoção das peças e processamento das mesmas para análise microscópica (Leonardo et al. 1994, 1995, 1997, 1999, 2003; Silva, 1995; Tanomaru Filho et al., 1998).

Quanto aos parâmetros de reparação apical e periapical utilizados: intensidade do infiltrado inflamatório, extensão da área da lesão periapical e presença de reabsorção óssea; diversos estudos, realizados previamente, atestam a eficácia da avaliação destes, quando da avaliação comparativa de diferentes materiais de uso endodôntico, no modelo experimental cão, levando-se em consideração o parâmetro biocompatibilidade (Holland et al., 2005; Leonardo et al., 2007; Brasil et al., 2010).

Dos Resultados

As principais finalidades do tratamento endodôntico são relacionadas a uma completa limpeza e modelagem do sistema de canais radiculares, e preenchimento deste, em toda sua extensão, com material obturador endodôntico, isolando-o dos tecidos periapicais. De acordo com conceito clássico, espera-se que o material obturador ideal apresente a capacidade de selamento dos canais radiculares, impedindo a penetração de microrganismos, via parede do canal, após o tratamento endodôntico realizado; impossibilite o reingresso de microrganismos remanescentes ao preparo biomecânico e curativo de demora, presentes nos túbulos dentinários, seja pela capacidade de adesão as paredes do canal, seja pela atividade antimicrobiana dos cimentos endodônticos; e ainda, propriedades biológicas que permitam ou estimulem o reparo dos tecidos periapicais após o término do tratamento endodôntico (Leonardo, 2005a). Dessa maneira, a associação de cones de guta-percha, material comprovadamente inerte aos tecidos apicais e periapicais; associada a cimentos à base de óxido de zinco e eugenol, hidróxido de cálcio, ionômero de vidro, e resina epóxica, com diferentes propriedades físico-químicas e biológicas, vem sendo utilizados como materiais obturadores de canais radiculares, desde o século passado e início deste, sem contudo apresentarem todas as características necessárias para serem considerados como material ideal (Schwartz, 2006).

Atualmente, sabendo-se da dificuldade na erradicação das infecções endodônticas primárias, persistentes ou refratárias, após preparo biomecânico, associado ou não a medicação intracanal; e ainda, na impossibilidade de realizar restaurações de dentes tratados endodonticamente, totalmente impermeáveis aos microrganismos presentes na cavidade oral; o surgimento de materiais obturadores de canais radiculares com propriedades adesivas, que venham a interagir com a dentina do canal radicular, não apenas pela capacidade de penetração nos túbulos dentinários; mais ainda, pela interação e retenção micromecânica dos cimentos resinosos na matriz de colágeno presente na dentina intertubular, conforme descrito por Nakabayashi et al. (1982), e confirmado por outros autores (Tao; Pashley, 1988; Tagami; Tao; Pashley, 1990) na odontologia restauradora, é vista como característica primordial nos cimentos resinosos lançados, para utilização no sistema de canais radiculares. Logo, a formação de uma camada híbrida, conforme descrito por Nakabayashi et al. (1982), decorrente da adesão dos sistemas adesivos das resinas compostas com a matriz colagênica, presente no *smear layer*, da dentina coronária, é propriedade essencial a ser reproduzida na dentina intertubular do canal radicular, pelos novos sistemas obturadores ou cimentos endodônticos resinosos lançados no mercado.

O mecanismo de adesão micromecânica, proporcionada pelos cimentos resinosos atuais, em contato com a dentina radicular, aumentaria a força de adesão da massa de obturação endodôntica à parede do canal radicular (Nagas; Cebrelli; Durmaz, 2001; Gogos et al., 2004); bem como, reduziria ou impediria a microinfiltração, coronária e apical, de microrganismos, produtos e subprodutos destes, assim como fluidos dos tecidos periapicais e salivares, através da obturação endodôntica (Shipper et al., 2005; Tunga; Bodrumlu, 2006). Dentro dessa nova proposta de desenvolvimento de cimentos obturadores de canais radiculares com aumentada capacidade de adesão e selamento à parede dos canais radiculares, baseada na formação de uma possível “camada híbrida”, Shrestha et al. (2010) classifica-os em gerações, estando os cimentos comercialmente disponíveis no mercado, atualmente na quarta geração. Assim, os cimentos resinosos atuais deixaram de ter como componente principal a resina epóxica, e utilizando, como tal, resinas a base de metacrilatos, sendo a primeira geração à base de metacrilato hidrofílico para obtenção de uma massa plástica obturadora de canal; a segunda geração utilizaria de monômeros de resina hidrofílica não-ácidas, devendo ser utilizado após remoção da camada de *smear layer* da parede do canal; a terceira geração utilizaria um primer autocondicionante de dentina e cimento endodôntico; e a quarta geração, consiste de uma associação de monômeros ácidos, primer e adesivo, juntos formando um cimento resinoso único. A destacar, no nosso experimento utilizamos um cimento dito ser da segunda geração, o EndoREZ, disponível no

mercado nacional há pelo menos dez anos, e um cimento resinoso classificado como de quarta geração, o Real Seal SE, já há algum tempo no mercado americano, também conhecido como Epiphany, que aos poucos vem sendo comercializado no Brasil.

Além da esperada adesão dos cimentos resinosos atuais à dentina radicular, questionamentos surgiram em relação à adesão destes aos cones de guta-percha. Assim, foram desenvolvidos cones de um material denominado Resilon, compostos de policaprolactona, vidro bioativo, oxicloridrato de bismuto e sulfato de bário, com o objetivo de melhorar a adesão dos cimentos resinosos atuais não apenas a dentina radicular, mais também aos cones, formando um corpo único dentina-cimento-cone, que os autores denominaram “monobloco” (Teixeira et al., 2004). De acordo com o fabricante, o núcleo de polímeros de policaprolactona dos cones de Resilon contém uma mistura de dimetacrilatos que aderem aos cimentos à base de metacrilatos (Jia; Alpert, 2003), e a dentina radicular, formando um monobloco capaz de melhorar o selamento e, ao mesmo tempo, reforçar os dentes tratados endodonticamente frente a esforços mastigatórios (Teixeira et al., 2004). Dessa maneira, quando comparado à guta-percha, sugere-se uma melhor capacidade de selamento desse material quando associado a cimentos resinosos, reduzindo a microinfiltração (Tunga; Bodrumlu, 2006; Stratton; Apicella; Mines, 2006); melhorando a força de adesão à dentina radicular, tornando os dentes tratados endodonticamente mais resistente a fraturas (Wilkinson; Beeson; Kirkpatrick, 2007); e com biocompatibilidade tecidual igual (Bodrumlu et al., 2008) ou superior à guta-percha (Donadio et al., 2008), dependendo do modelo experimental de avaliação. Ainda, (Prado; Simão; Gomes, 2013) demonstraram existir uma maior força de adesão do cimento Real Seal SE aos cones de Resilon, que o cimento à parede do canal radicular, caracterizando a formação de um “corpo único” de obturação.

Poucos estudos em modelo animal, que avaliem as propriedades biológicas desses cimentos resinosos, associados ou não a cones de Resilon, isto é, a resposta histopatológica da reparação dos tecidos apicais e periapicais, quando em situações que simulem a clínica endodôntica, foram publicados. Entretanto, esse fator não tem desencorajado ou impedido a utilização rotineira, destes cimentos, por clínicos no mundo todo; bem como, estudos de acompanhamento clínico-radiográficos realizados em humanos vem sendo publicados (Zmener; Pameijer, 2004, 2007, 2010), sem conhecimento prévio dos eventos histopatológicos desenvolvidos nos tecidos periapicais, quando do contato com esses. Concordamos com Souza et al. (2006) quando os mesmos citam uma afirmação de Stanley (1985): “que apesar de vários estudos experimentais não necessariamente poderem garantir segurança absoluta no uso de determinado material, investigações de toxicidade apresentam

dados que racionalmente projetam e predizem a melhor maneira ou condição pelas quais o material possa ser usado com segurança". Ainda, a biocompatibilidade destes cimentos torna-se requisito fundamental para uso clínico, à medida que componentes tóxicos presentes nestes poderiam provocar reações inflamatórias crônicas ou processo degenerativos nos tecidos periapicais, quando de um possível extravasamento nesta região (Huang et al., 2005), impedindo o processo de reparo dos tecidos periapicais após o tratamento, ou perpetuando a lesão periapical, conforme demonstrado por Nair (2004), em estudo clássico sobre as causas de insucessos em endodontia. Logo, a avaliação da resposta dos tecidos apicais e periapicais desses cimentos resinosos EndoREZ e Real Seal SE, utilizando cães como modelo experimental, para obturação endodôntica de dentes com necrose pulpar e presença de lesão periapical; e a análise comparativa destes com o cimento Sealapex, na reparação de tecidos apicais e periapicais, apresenta subsídios científicos que permitiriam uma extrapolação para utilização clínica destes, no tratamento endodôntico de dentes de humanos.

Baseado nos resultados do nosso trabalho, os diferentes períodos experimentais, 30 e 90 dias, apresentaram modificações nos parâmetros de resposta quantitativa, em praticamente todos os eventos celulares avaliados, independente dos materiais analisados. Essa diferença torna-se relevante, à medida que estabelece características positivas de reparo tecidual (redução do número de células inflamatórias, diminuição da extensão da área da lesão periapical e da reabsorção óssea e radicular, e presença de selamento biológico), observadas no período de 90 dias, em detrimento de avaliação preliminar no período de 30 dias. Considera-se que o sucesso do tratamento endodôntico, seja ele clínico, radiográfico ou histológico deve ser avaliado a longo prazo (Schwartz; Skidmore; Griffin, 1983; Sjögren et al., 1990; Green et al., 1997). Assim, concordamos com Brasil et al. (2010) que a melhoria da cicatrização nos tecidos apicais e periapicais deve-se não apenas pela possibilidade de redução progressiva dos efeitos do trauma químico-mecânico nos tecidos periapicais, e remoção de grande quantidade de micro-organismos e produtos destes, após a fase de preparo biomecânico e curativo de demora; mais também por reduzir os efeitos nocivos de possíveis extravasamentos dos cimentos obturadores nestes tecidos, a curto prazo; ao mesmo tempo que permitiria que os mesmos exercessem propriedades qualitativas (adesividade e selamento com a dentina radicular, força de adesão com a mesma, atividade antimicrobiana e biocompatibilidade) capazes de potencializar a reparação dos tecidos apicais e periapicais, a longo prazo.

Brasil et al. (2010) avaliaram a resposta dos tecidos periapicais de dentes de cães com vitalidade pulpar após tratamento endodôntico e obturação endodôntica, em única sessão, com um cimento à base de óxido de zinco e eugenol/guta-percha e o sistema Resilon/Epiphany, com formulação similar ao do Real Seal SE (Sybron Dental Specialties, Orange, CA), utilizado em nosso trabalho, após período de 60 dias; e verificaram ser possível, nessa fase intermediária do processo de reparo, observar os vários estágios de regeneração periapical, incluindo a fagocitose do cimento extravasado, redução ou ausência da reação inflamatória periapical, invaginação do tecido conjuntivo na terminação apical do canal, deposição progressiva de tecido fibroso nesta região, presença de cementoblastos depositados sobre uma nova barreira de tecido mineralizado semelhante ao cimento e progressiva reorganização do ligamento periodontal apical; aspectos histopatológicos que permitiram estabelecer perspectivas ou prever resultados positivos ou negativos da reparação periapical frente aos cimentos avaliados. De fato, Leonardo et al. (2007), quando da utilização do sistema Epiphany/Resilon, como obturador endodôntico, em mesma metodologia, técnica de tratamento e quadro clínico, utilizado por Brasil et al. (2010), variando apenas o período experimental (90 dias), constatou menor intensidade do infiltrado inflamatório, menor extensão da reação inflamatória, maior ausência de reabsorção de tecido mineralizado e ainda presença de selamento biológico total (22,2%) e parcial (55,55%), resultados condizentes com as perspectivas positivas de biocompatibilidade observados no estudo de Brasil et al. (2010), observadas aos 60 dias.

Em relação ao Real Seal SE/Resilon, considerado semelhante ao Epiphany/Resilon, se compararmos os resultados do nosso estudo, com os de Brasil et al. (2010) e Leonardo et al. (2007), considerando a progressão dos resultados histopatológicos, decorrentes dos dois períodos avaliados (30 e 60 dias) também observamos uma redução da reabsorção óssea e radicular (de 75% para 50%), tendência de diminuição das lesões periapicais, e selamento biológico parcial (30% dos casos). Entretanto, a persistência de infiltrado inflamatório, predominantemente mononuclear, em quantidade semelhante, nos dois períodos (30 e 90 dias) foi observada, diferente dos resultados observados nestes dois estudos acima mencionados. Obviamente, os dois trabalhos acima mencionados, foram realizados em dentes com vitalidade pulpar, onde é evidente a ausência de microrganismos nos tecidos apicais e periapicais. Ao contrário, utilizamos dentes com necrose pulpar e lesão periapical, onde a distribuição de microrganismos, produtos e subprodutos destes, pelos túbulos dentinários, delta apical, cimento radicular, áreas de reabsorção radicular na superfície externa do ápice radicular, lesão periapical e osso periapical, isolados ou na forma de biofilmes (Tronstad et al., 1987; Molven et al., 1991; Assed et al., 1996; Ribeiro, 1997;

Leonardo et al., 2002), dificultam ou impedem sua remoção durante as diferentes fases do tratamento endodôntico, estando associados aos insucessos dos tratamentos (Tronstad et al., 1987, 1990; Nair et al., 1990; Sjögren, 1996; Nair, 2004).

A sobrevivência dos microrganismos nos tecidos apicais e periapicais, principalmente, na forma de biofilme apical, seja no caso de dentes com necrose pulpar e lesão periapical sem tratamento endodôntico (Leonardo et al., 2002), ou com tratamento endodôntico e presença de lesão periapical refratária ou persistente (Tronstad et al., 1990; Nair, 2004), é multifatorial. A presença da necrose pulpar ou fragmentos de tecido pulpar necrosados (Costerton; Stewart; Greenberg, 1999), e o ambiente das crateras de reabsorção cimento-dentinárias, entre outros fatores, favorecerem a colonização dos biofilmes, sendo esta área de difícil acesso as células de defesa do hospedeiro; além de que biofilmes são 500% mais resistentes a antimicrobianos, que bactérias planctônicas ou isoladas (Costerton, 1999). Por outro lado, os microrganismos nos tecidos periapicais criam diferentes mecanismos de evasão microbiana às defesas do hospedeiro, pela produção de proteases C3 e C5, a produção de imunoglobulinases, variação antigênica, inibição da quimiotaxia pelas células de defesa, produção de leucotoxinas, capacidade de adesão microbiana, produção de catalases e superóxido dismutase, e coagregação bacteriana (Sundqvist, 1992). Dessa maneira, um dos fatores que poderiam justificar a diferença dos nossos resultados, no reparo dos tecidos apicais e periapicais, com o uso do cimento Real Seal SE, em relação aos trabalhos de Brasil et al. (2010) e Leonardo et al., (2007), estaria relacionado ao fato que em nosso trabalho, todos os dentes tratados, apresentavam necrose pulpar e lesão periapical. Obviamente, a presença de microrganismos distribuídos no sistema de canais radiculares nos dentes com necrose pulpar e lesão periapical foi determinante na resposta tecidual, independente dos grupos avaliados.

Com relação ao cimento EndoREZ, Zmener e Pameijer (2004, 2007, 2010), realizaram um estudo de acompanhamento clínico-radiográfico em 295 canais radiculares de 180 pacientes, no qual avaliaram a taxa de sucesso do tratamento endodôntico, em sessão única, em dentes com vitalidade pulpar e necrose pulpar sem ou com lesão periapical, após três períodos distintos de 14-24 meses, 5 anos e 8 anos, respectivamente, com o referido cimento associado a guta-percha. Independente das condições prévias dos tecidos pulpar e periapical, os índices de sucesso dos tratamentos foram de 91%, 90% e 86,5%, para os períodos avaliados, 14-24 meses, 5 anos e 8 anos, respectivamente. Os critérios de sucesso foram baseados na ausência de sintomas clínicos, a presença de espaço do ligamento periodontal normal ou levemente aumentado, e a ausência ou substancial redução no

tamanho da lesão periapical pré-existente, visível radiograficamente. Segundo os autores, esses resultados são condizentes com os encontrados em outros estudos onde são utilizados cimentos à base de óxido de zinco e eugenol e hidróxido de cálcio, normalmente utilizados para obturação endodôntica, sugerindo que a utilização do cimento EndoREZ com cones de guta-percha constituem um aceitável sistema de obturação a ser utilizado na Endodontia.

Partindo do pressuposto que existe uma tendência mundial pela utilização de cimentos resinosos nas obturações endodônticas, que o cimento EndoREZ encontra-se disponível no mercado nacional há algum tempo; e considerando ainda, principalmente, o uso e preconização do mesmo para utilização clínica, conforme citado anteriormente por Zmener e Pameijer (2004, 2007, 2010), pela alta taxa de sucesso clínico-radiográfico encontrado nos seus estudos, julgamos ser necessário a avaliação da histocompatibilidade, em canais radiculares de dentes de cães, tentando obter um modelo experimental que simule o mais próximo uma situação clínica em humanos. Assim, avaliamos quantitativamente a resposta dos tecidos apicais e periapicais de dentes de cães com necrose pulpar e lesão perapical, tratados endodonticamente conforme metodologia apresentada, e obturados com este cimento, após períodos de 30 e 90 dias, e observamos a presença de infiltrado inflamatório, predominantemente composto por células mononucleares, poucos neutrófilos, estendendo-se além da metade do ligamento periodontal, em ambos os períodos; bem como a quantidade de células inflamatórias e extensão das lesões periapicais. A presença de reabsorção radicular e óssea foi também semelhante nos dois períodos, em torno de 50% dos casos; e o selamento biológico parcial do forame apical, artificialmente criado, observado em apenas 20% dos espécimes, após o período de 90 dias.

Com metodologia semelhante ao estudo por nós realizado, e mesmo período de avaliação, isto é, 90 dias, Suzuki et al. (2010) avaliando a resposta dos tecidos apicais e periapicais de dentes de cães com vitalidade pulpar, após o tratamento endodôntico e obturação dos canais radiculares com o cimento EndoREZ, aquém e além do ápice radicular, visível radiograficamente, também verificaram a persistência de infiltrado inflamatório com linfócitos, histiócitos e plasmócitos, predominantemente, em ambos os limites de obturação endodôntica, sendo severa em todos os canais obturados além do ápice radicular (extravasamento de cimento intencional); e suave (20% dos casos), moderada (40% dos casos), e severa (40% dos casos) nos casos obturados aquém do ápice radicular (onde procuraram evitar o extravasamento do cimento); selamento biológico parcial ocorreu em 20% dos casos obturados, independente do limite de obturação avaliado; e reabsorções radiculares (cementárias), praticamente não foram observadas. Os autores concluíram que

limitar a obturação dos canais radiculares aquém do ápice radicular (evitar extravasamento do cimento) melhora o reparo dos tecidos apicais e periapicais, do ponto de vista histológico. Apesar dos autores verificarem os efeitos das obturações de canais radiculares no reparo dos tecidos apicais e periapicais de dentes com vitalidade pulpar, e nós avaliarmos o reparo no tratamento de dentes com necrose pulpar e lesão periapical, os aspectos histopatológicos encontrados no período de 90 dias, foram semelhantes.

Sousa et al. (2006) implantaram tubos de teflon, preenchidos com o cimento EndoREZ, em mandíbulas de porcos, conforme a metodologia de padronização para avaliação de propriedades biológicas recomendados pelo Relatório Técnico #9 da FDI, em períodos de 4 e 12 semanas após implantação, e verificaram severa reação tecidual, com infiltrado inflamatório crônico, prevalecendo linfócitos, macrófagos e células gigantes de corpo estranho, materiais dispersos, áreas de hemorragia e vasos hiperemiados, em ambos os períodos. No período de 4 semanas foi observada a formação de uma fina camada de tecido conjuntivo entre o material e o osso, que não se repetiu após as 12 semanas. Apesar do modelo experimental diferente, esses resultados tornam-se comparativos aos nossos, à medida que demonstram persistência de infiltrado inflamatório crônico, destruição de tecido conjuntivo circundante e ausência de formação de reparação de tecido ósseo, características de incompatibilidade tecidual do referido cimento. Assim como Suzuki et al. (2010), os autores também não verificaram a presença de microrganismos nos cortes histológicos corados com Brown & Brenn, em nenhum dos períodos avaliados. Logo, concordamos com Suzuki et al. (2010), que caracterizam esse cimento como não sendo ideal na Endodontia, atribuindo-se a persistência do infiltrado inflamatório crônico e destruição tecidual adjacente; e ainda, ausência de selamento apical por tecido mineralizado.

O fato da ausência de microrganismos, tanto no trabalho de Sousa et al. (2006) como no de Suzuki et al. (2010), leva a crer que a toxicidade tecidual deste cimento estaria relacionada a componentes presentes na sua fórmula, ou propriedades físico-químicas inadequadas para utilização em tecido biológico. Essas suposições podem ser atestadas em parte, pelo estudo realizado por Lee et al. (2011) que avaliaram a citotoxicidade, grau de polimerização, força de adesão, solubilidade e estabilidade dimensional, de alguns cimentos resinosos presentes no mercado, incluindo o EndoREZ e o Epiphany, considerados à base de uretano dimetacrilato, frente a dois novos cimentos resinosos à base de uretano acrilato, com diferentes metodologias, conforme tipo de teste avaliado. De uma maneira geral, os resultados obtidos por este trabalho mostraram que os cimentos à base uretano dimetacrilato (EndoREZ, Epiphany ou Real Seal) apresentaram baixo grau de polimerização, maior citotoxicidade, solubilidade e alterações dimensionais, e menor força de adesão,

quando comparados aos cimentos à base de uretano acrilato. Ainda, os cimentos EndoREZ e Epiphany (Real Seal), com alterações dimensionais de 2,72% e 10,13%, respectivamente, não estão em conformidade com a resolução 57 ANSI/ADA, na qual a contração média linear de um cimento endodôntico não pode exceder 1%, fator que pode influenciar diretamente na capacidade de adesão do cimento endodôntico à parede do canal e aos cones. Também, os resultados relativos a solubilidade mostraram que após 7 dias, o cimento EndoREZ e Epiphany (Real Seal), apresentaram 4,35% e 12,75%, respectivamente, quando a mesma resolução citada anteriormente, diz que a solubilidade requerida de um cimento endodôntico não pode ultrapassar 3% de sua massa. Essas duas propriedades estariam intimamente relacionadas a citotoxicidade destes cimentos, à medida que uma maior quantidade de monômeros de resina livre (Goldberg, 2008) poderiam entrar em contato com os tecidos apicais e periapicais retardando ou impedindo a reparação dos tecidos.

A citotoxicidade do Epiphany (Real Seal) sobre fibroblastos do ligamento periodontal foi demonstrada *in vitro*, aumentando com a maior concentração e maior tempo de exposição do cimento aos fibroblastos (Heitman et al., 2008). Ainda, a viabilidade e morfologia dos cementoblastos, e a expressão de genes associados à mineralização tecidual (colágeno tipo I, sialoproteína óssea, fator de transcrição Runx2 e fosfatase alcalina) foram avaliados *in vitro* frente ao cimento Real Seal, verificando uma diminuição da viabilidade celular, mudanças na morfologia dos cementoblastos e maior expressão dos genes, quando comparados a outros cimentos (Hakki et al., 2013). Se considerarmos que tanto os fibroblastos do ligamento periodontal, quanto os cementoblastos estariam relacionados ao selamento biológico do ápice radicular, isto é, completo reparo dos tecidos apicais e periapicais, após tratamento endodôntico, os resultados do nosso trabalho *in vivo*, vem corroborar com esses resultados *in vitro*, justificando ainda mais, a resposta insatisfatória do reparo dos tecidos apicais e periapicais frente a este cimento.

Além disso, a menor força de adesão destes cimentos EndoREZ e Epiphany (Real Seal) encontrado por Lee et al. (2011), em cilindros de aço, tinha sido demonstrado por Bouillaguet et al. (2007) testando esses mesmos cimentos associados a cones de gutapercha e cones de Resilon, respectivamente, na obturação de canais radiculares de dentes de humanos extraídos. Os autores verificaram uma força de adesão 2,5 – 5,0 MPa na média dos três terços do canal radicular (apical, médio e coronário), para ambos os cimentos, valores considerados baixíssimos, quando comparada à adesão das resina fotopolimerizáveis a dentina coronária (Williams et al., 2006). Essa deficiente força de adesão dos cimentos à parede do canal radicular, por si só, já descaracterizaria a formação de um “monobloco”,

sugerido por Teixeira et al. (2004), tido como mecanismo de reforço aos dentes, na tentativa de reduzir as fraturas radiculares de dentes tratados endodonticamente.

Também, essa baixa força de adesão dos cimentos EndoREZ e Epiphany (Real Seal) à parede dos canais radiculares e o alto grau de contração destes, relatados acima, e comprovados por Bouillaguet et al. (2007), reduziriam a capacidade de adesão e selamento aos canais radiculares, propriedades tão importantes no tocante a redução da microinfiltração coronária e apical de microrganismos, produtos e subprodutos, e fluidos, moléculas ou íons, entre as paredes do canal e os cimentos obturadores (Shrestha et al., 2010). Uma maior proliferação *Enterococcus faecalis*, isoladamente, ou na forma de biofilme, foi detectada na interface parede de canal radicular e cimento Real Seal e cimento à base de resina amino-epóxica (AH Plus), quando comparados com uma resina fotopolimerizável (Adaper Scotchbond Multi Purpose, 3M), em modelo experimental *in vitro*. Em ambos os canais radiculares obturados com Real Seal e AH Plus foi observada uma mais profunda proliferação de biofilme nos espécimes, após 1 e 3 meses, sendo a proliferação máxima observada com cimento Real Seal após período de um mês, tendendo a diminuir após 6 meses de avaliação (Roth et al., 2012). Em relação ao Real Seal, como utilizamos dentes com necrose pulpar e presença de lesão periapical, microrganismos remanescentes ao preparo biomecânico e curativo de demora, presentes nos túbulos dentinários, poderiam reingressar com mais facilidade ao canal radicular, e tecidos apicais e periapicais, sendo mais um fator que justificasse os resultados obtidos no nosso trabalho, à medida que uma tendência de diminuição do tamanho das lesões periapicais, menor prevalência de reabsorção óssea e radicular (50% dos casos) e selamento biológico parcial (30% dos casos), foram observados no período de 90 dias.

O cimento Sealapex foi utilizado como referência positiva, devido a trabalhos prévios realizados com este cimento, utilizando de cães como modelo experimental, demonstrarem a formação de completo selamento biológico após tratamento endodôntico de dentes com vitalidade pulpar (Holland et al., 1985; Leonardo et al., 1997) e dentes com necrose pulpar e lesão periapical (Tanomaru Filho et al., 1998; Leonardo et al., 2003). De fato, aos 90 dias selamento biológico parcial foi observado em 50% dos casos, bem como maior redução nas áreas de reabsorção radicular e óssea, quando comparados com aos outros dois cimentos (EndoREZ e Real Seal SE), caracterizando um maior potencial de reparação tecidual. Apesar de não termos realizado coloração para detecção de microrganismos, sugere-se uma menor quantidade destes, em ambos os períodos, 30 e 90 dias, quando comparados com os outros cimentos avaliados, corroborando com achados de Tanomaru Filho et al. (1998), quando verificaram menor quantidade de microrganismos, em cortes histológicos corados com

Brown & Brenn, após obturação de canais radiculares de dentes com necrose pulpar e lesão periapical obturados com este cimento, em comparação com o cimento EndoFill.

Ainda, comparativamente aos canais radiculares obturados com os cimentos resinosos EndoREZ e Real Seal SE, não foram observadas diferenças na intensidade e extensão do infiltrado inflamatório presente no periápice, resultados semelhantes aos apresentados por Leonardo et al. (2007), quando compararam os cimentos Sealapex e Epiphany/Resilon (Real Seal SE), apesar dos autores terem realizado o experimento em dentes com vitalidade pulpar. Os mesmos atribuíram a modificações na fórmula original do Sealapex como sendo o provável motivo das diferenças de resultados encontrados em estudos prévios. Talvez, fatores como um possível maior extravasamento deste cimento nos tecidos periapicais, pode ser acrescentado a semelhança de resultados com os cimentos resinosos, principalmente, considerando-se que nos períodos de 30 e 90 dias, o mesmo ainda poderia estar presente nos tecidos.

Provavelmente, caso tivéssemos realizados um período de avaliação maior que 90 dias, observaríamos um maior número de selamentos biológicos parcial ou mesmo total, menor presença de reabsorções ósseas e radiculares, ausência ou redução no número de células inflamatórias, conforme verificado em outros trabalhos com período de avaliação de até 180 dias após o tratamento realizado (Holland et al., 1985; Leonardo et al., 1997; Tanomaru Filho et al., 1998). Quanto ao maior número de selamentos biológicos, Silva (1995) sugeriu como sendo a alta concentração de íons cálcio presentes no Sealapex, verificada pela espectrofotometria de absorção atômica, como sendo a principal responsável pela deposição de tecido mineralizado.

Considerando que a prática clínica da Endodontia é realizada sobre tecidos biológicos, concordamos com Sousa et al. (2006) quando afirmam ser necessária a realização de testes de biocompatibilidade tecidual frente aos diferentes materiais empregados, antes da utilização em pacientes, pois a presença de componentes tóxicos, na composição desses materiais, poderiam interferir negativamente na reparação dos tecidos apicais e periapicais (Nair, 2004). Assim, considerando os resultados histopatológicos da reparação dos tecidos periapicais frente ao tratamento de dentes com necrose pulpar e lesão periapical, obturados com os cimentos resinosos EndoREZ e Real Seal SE, e comparando-os com o cimento Sealapex, não constatamos os benefícios esperados com a utilização destes cimentos resinosos a ponto de indicá-los para uso rotineiro na clínica, que justifiquem a substituição dos cimentos à base de hidróxido de cálcio, atualmente encontrados no mercado nacional.

Em relação ao grupo controle, tanto no período de 30 quanto de 90 dias, nossos resultados ressaltam a importância do curativo de demora de hidróxido de cálcio no

tratamento de dentes com necrose pulpar e lesão periapical. Foi verificada uma diminuição no número de células inflamatórias no período de 90 dias; diminuição das áreas de reabsorção óssea e radicular; presença de fibras do ligamento periodontal apical, com características de normalidade aos 90 dias; e presença de selamento biológico parcial em, aproximadamente, 75% dos casos, em ambos os períodos.

Apesar da ausência de métodos de avaliação histomicrobiológicos, os resultados histopatológicos encontrados no nosso estudo; e, ainda, trabalhos anteriormente realizados pelo nosso grupo (Silva, 1991; Leonardo et al., 1994; Tanomaru Filho et al., 1998; Leonardo et al., 2003; Soares et al., 2005; Soares et al., 2006a), sugerem que a persistência de microrganismos nos tecidos apicais e periapicais, isoladamente ou na forma de biofilme (Leonardo et al., 2002), seria a principal responsável pela ausência de reparo biológico total destes tecidos. Entretanto, mesmo com a possível presença de microrganismos nos tecidos apicais, observamos melhores resultados histológicos nestes dois grupos (30 e 90 dias com Calen). A justificativa para tais resultados deve-se provavelmente a atividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio quando veiculado em polietilenoglicol 400 (Calen) (Leonardo et al., 2000), responsável pela liberação lenta de íons cálcio e hidroxila (Leonardo et al., 1992), mesmo após período extenso de avaliação (90 dias); bem como sua capacidade de neutralizar toxinas bacterianas (Silva et al., 2002), a biocompatibilidade com tecidos periapicais (Leonardo et al., 1997), inibição da reabsorção radicular e óssea (Soares et al., 2005), e indução da mineralização nos tecidos apicais e periapicais (Leonardo et al., 1994).

Considerando a importância do curativo de hidróxido de cálcio no tratamento de dentes com necrose pulpar e lesão periapical, utilizamos este em todos os outros grupos experimentais, por período de 15 dias. Neste período, ocorre a maior liberação de íons cálcio e hidroxila nas camadas dentinárias mais externas, responsáveis por tornar o ambiente inóspito a persistência dos microrganismos e facilitar a regeneração dos tecidos periapicais (Nerwich et al., 1994; Soares et al., 2006b). Apesar da utilização do curativo nos grupos experimentais (EndoREZ, Real Seal e Sealapex), os resultados histológicos não foram satisfatórios, logo, ratifica, mais ainda, nossos resultados, no tocante à incompatibilidade dos tecidos apicais e periapicais frente a este cimentos.

Recomendamos ainda, que novos estudos de biocompatibilidade sejam realizados com estes cimentos resinosos, preferencialmente, em modelo experimental semelhante ao nosso, e com período de avaliação mais extenso que 90 dias, para verificar possíveis modificações no potencial de reparo dos tecidos apicais e periapicais frente a estes materiais.

CONCLUSÕES

- Em todos os cimentos avaliados foi encontrada persistência de infiltrado inflamatório estendendo-se além da metade do ligamento periodontal, em ambos os períodos de avaliação (30 e 90 dias);
- Maior quantidade de selamento biológico foi observado nos dentes com canais radiculares obturados com o cimento Sealapex, sendo maior no período de 90 dias (50% dos casos);
- A presença de reabsorção óssea foi maior nos dentes obturados com o cimento Real Seal SE, 75% dos casos aos 30 dias; e 50% dos casos no período de 90 dias;
- De maneira geral, e com as limitações do nosso experimento, os cimentos resinosos EndoREZ e Real Seal SE, não foram bem tolerados pelos tecidos apicais e periapicais. Ainda, melhor reparo dos tecidos apicais foi encontrado nos dentes obturados com o cimento Sealapex, embora não tenham sido observados reparo total das lesões periapicais.

REFERÊNCIAS

- Almeida WA. Cimentos obturadores de canais radiculares: Avaliação histológica da resposta dos tecidos apicais e periapicais em dentes de cães após biopulpectomia. Estudo da infiltração marginal apical [tese]. Araraquara: UNESP, Faculdade de Odontologia de Araraquara; 1997. p.98-117.
- Assed S, Ito IY, Leonardo MR, Silva LAB, Lopatin DE. Anaerobic microorganisms in root canals of human teeth with chronic apical periodontitis by indirect immunofluorescence. *Endod Dent Traumatol*. 1996;12:66-9.
- Baugh D, Wallace J. The role of apical instrumentation in root canal treatment: a review of the literature. *J Endod*. 2005;31:333-40.
- Becce C, Pameijer CH. Study of new endodontic root canal sealer. *J Dent Res*. 2001;11(5):245-9.
- Behrend GD, Cutler CW, Gutmann JL An *in-vitro* study of smear layer removal and microbial leakage along root-canal fillings. *Int Endod J*. 1996;29:99-107.
- Bodrumlu E, Muglali M, Sumer M, Guvenc T. The response of subcutaneous connective tissue to a new endodontic filling material. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2008;84:463-7.
- Bonetti Filho I. Avaliação da biocompatibilidade de quatro técnicas de obturação de canais radiculares. Estudo em dentes de cães [tese]. Araraquara: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia; 1990.
- Bouillaguet S, Bertossa B, Krejci I, Wataha JC, Tay FR, Pashley DH. Alternative adhesive strategies to optimize bonding to radicular dentin. *J Endod*. 2007;33:1227-30.
- Bouillaguet S, Wataha JC, Lockwood PE, Galgano C, Golay A, Krejci I. Cytotoxicity and sealing properties of four classes of endodontic sealers evaluated by succinic dehydrogenase activity and confocal laser scanning microscopy. *Eur J Oral Sci*. 2004 Apr;112(2):182-7.
- Brasil DS, Soares JA, Horta MCR, Ferreira CL, N E, Chaves GG, Silveira FF. Periapical repair in dog teeth: Root canal adhesive filling by using the resilon system. *J Endod*. 2010;36:482-488.
- Camargo CHR, Camargo SEF, Valera MC, Hiller K-A, Schmalz G, Schweikl H. The induction of cytotoxicity, oxidative stress, and genotoxicity by root canal sealers in mammalian cells. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;108:952-60.
- Campos-Pinto MMD, Oliveira DA, Versiani MA, Silva-Sousa YTC, Sousa-Neto MD, Perez DEC. Assessment of the biocompatibility of Epiphany root canal sealer in rat subcutaneous tissues. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008;105:e77-e81.
- Cheung GS, Liu CS. A retrospective study of endodontic treatment outcome between nickel-titanium Rotary and stainless steel hand filing techniques. *J Endod*. 2009;35:938-43.
- Cohen BI, Pagnillo MK, Musikant BL, Deutsch AS. An in vitro study of the cytotoxicity of two root canal sealers. *J Endod*. 2000 Apr;26(4):228-9.

Conner DA, Teixeira FB, Caplan DJ, Trope M. One year radiographic evaluation of teeth treated endodontically with Resilon root filling. J Endod. 2006;32:254 (abstr PR7).

Cordeiro RCL, Leonardo MR, Silva LAB, Cerri PS. Desenvolvimento de um dispositivo para padronização de tomadas radiográficas em cães. RPG. 1995;2:138-40.

Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. Science. 1999;284:1318-1322.

De Deus G, Namen F, Galan Jr et al. Soft chelating irrigation protocol optimizes bonding quality Resilon/Epiphany root fillings. J Endod. 2008;34:703-5.

Debelian GJ. Treatment outcome of teeth treated with an evidenced-based disinfection protocol and filled with Resilon. J Endod. 2006; 32:251 (abstr OR72).

Dentistry: International Standards Organization, preclinical evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry – test methods for dental materials. Geneva, Switzerland: International Standards Organization, 1997:ISO 7407.

Donadio M, Jiang J, Safavi KE, Zhu Q. Cytotoxicity evaluation of Active GP and Resilon cones in vitro. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2008;106:e76-9.

Eldeniz AU, Erdemir A, Belle S. Shear bond strength of three resin based sealers to dentin with and without the smear layer. J Endod. 2005;31:293-6.

Ersaban S, Aydin C. Dislocation resistance of iRoot SP, a Calcium Silicate-based sealer, from radicular dentine. J Endod. 2010;36:2000-2.

Garcia LFR, Marques AAF, Roselino LMR, Pires-de-Souza FCP, Consani S. Biocompatibility evaluation of Epiphany/Resilon root canal filling system in subcutaneous tissue of rats. J Endod. 2010;36:110-4.

Gesi A, Raffaelli O, Goracci C, Pashley DH, Tay FR, Ferrari M. Interfacial strength of Resilon and gutta-percha to intraradicular dentin. J Endod. 2005;31:809-13.

Gogos C, Economides N, Stavrianos C, Kolokouris I, Kokorikos I. Adhesion of a new methacrylate resin-based sealer to human dentin. J Endod. 2004;30:238-40.

Goldberg M. In vitro and in vivo studies on the toxicity of dental resin components: a review. Clin Oral Investig. 2008;12:1-8.

Green TI, Walton RE, Taylor JK, Merrel P. Radiographic and histological periapical findings of root canal treated teeth in cadáver. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1997;83:707-11.

Hakki SS, Bozkurt BS, Ozcopur B, Gandolfi MG, Prati C, Belli S. The response of cementoblasts to calcium phosphate resin-based and calcium silicate-based commercial sealers. Int Endod J. 2013;46:242-252.

Heitman EP, Joyce AP, McPherson JC, Roberts S, Chuang A. An *In Vitro* evaluation of the growth of human periodontal ligament fibroblasts after exposure to a Methacrylate-based endodontic sealer. J Endod. 2008;34:186-189.

Herbert J, Bruder M, Braunsteiner J, Altenburger MJ, Wrbas K-T. Apical quality and

adaptation of Resilon, EndoREZ, and Gutttaflow root canal fillings in combination with a noncompaction technique. *J Endod.* 2009;35:261-4.

Holland R, Mazuqueli L, Souza V, Murata SS, Dezan Júnior E, Suzuki P. Influence of the type of vehicle and limit of obturation on apical and periapical tissue response in dog's teeth after root canal filling with mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2007;33:693-7.

Holland R, Santana Junior A, Souza V, et al. Influence of apical patency and filling material on healing process of dog's teeth with vital pulp after root canal therapy. *Braz Dent J.* 2005;16:9-16.

Holland R, Souza V. Ability of a new calcium hydroxide root canal filling material induce hard tissue formation. *J Endod.* 1985;12:535-43.

Huang FM, Tsai CH, Yang SF, Chang YC. Induction of interleukin-6 and interleukin-8 gene expression by root canal sealers in human osteoblastic cells. *J Endod.* 2005;31:679-83.

Huang TH, Yang JJ, Li H, Kao CT. The biocompatibility evaluation of epoxy resin-based root canal sealers in vitro. *Biomaterials.* 2002 Jan;23(1):77-83.

Jia W, Alpert B, inventors; Pentron Clinical Technologies, LLC (Wallingford, CT, US), assignee. Root canal filling material. US Patent application 20030113686. June 19, 2003.

Kazemi RB, Safavi KE, Spangberg LS. Dimensional changes of endodontic sealers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1993;76(6):766-71. 1.

Khademi A, Yazdizadeh M, Feizianfard M. Determination of the minimum instrumentation size for penetration of irrigants to the apical third of root canal systems. *J Endod.* 2006;32:417-20.

Lee B-S, Wang C-Y, Fang Y-Y, Hsieb K-H. A novel Urethane Acrylate-based root canal sealer with improved degree of conversion, cytotoxicity, bond strengths, solubility, and dimensional stability. *J Endod.* 2011;37:246-49.

Lee KW, Williams MC, Camps JJ, Pashley DH. Adhesion of endodontic sealers to dentin and gutta-percha. *J Endod.* 2002;28:684-8.

Leonardo MR, Almeida WA, Ito IY, da Silva LA. Radiographic and microbiologic evaluation of post treatment apical and periapical repair of root canals of dogs' teeth with experimentally induced chronic lesion. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1994;78(2):232-8.

Leonardo MR, Almeida WA, Silva LA, Utrilla LS. Histopathological observations of periapical repair in teeth with radiolucent areas submitted to two different methods of root canal treatment. *J Endod.* 1995;21(3):137-41.

Leonardo MR, Almeida WA, Silva LAB, Utrilla LS. Histological evaluation of the response of apical tissues to glass ionomer and zinc oxide-eugenol based sealers in dog teeth after root canal treatment. *Endod Dent Traumatol.* 1998; 14:257-61.

Leonardo MR, Barnett F, Debelian GJ, Lima RKP, Silva LAB. Root canal adhesive filling in dog's teeth with or without coronal restoration: a histopathological evaluation. *J*

Endod. 2007;33(11):1299-1303.

Leonardo MR, Leal JM. Preparo biomecânico dos canais radiculares – meios mecânicos: instrumentos (instrumentação clássica ou convencional). In: Leonardo MR. Endodontia: tratamento de canais radiculares: princípios técnicos e biológicos. São Paulo: Artes Médicas, 2005. cap. 15, p.571-606.

Leonardo MR, Salgado AA, Silva LAB, Tanomaru Filho M. Apical and periapical repair of dog's teeth with periapical lesions after endodontic treatment with different root canal sealers. Pesqui. Odontol. Bras. São Paulo. 2003 jan./mar.; 17(1):69-74.

Leonardo MR, Silva LA, Utrilla LS, Leonardo RT, Consolaro A. Effect of intracanal dressings on repair and apical bridging of teeth with incomplete root formation. Endod Dent Traumatol. 1993;9(1):25-30.

Leonardo MR, Silva LAB, Almeida WA, Utrilla LS. Tissue response to an epoxy resin-based root canal sealer. Endod. Dent. Traumatol. Copenhagen. 1999 Feb; 15(1):28-32.

Leonardo MR, Silva LAB, Assed S, Ether SS. Calcium hydroxide root canal sealers – histopathologic evaluation of apical and periapical repair after endodontic treatment. J. Endod. Baltimore. 1997 Jul; 27(7):428-432.

Leonardo MR, Silva LAB, Rossi MA, Ito IY, Bonifácio KC. Evaluation biofilm and microorganisms on the external root surface in human teeth. J Endod. 2002;28:815-8.

Leonardo MR, Silva LAB, Tanomaru Filho M, Bonifácio KC, Ito IY. In vitro evaluation of antimicrobial activity of sealers and pastes used in Endodontics. J Endod. 2000;26:391-4.

Leonardo MR, Silva LAB, Utrilla LS, Assed S, Ether SS. Calcium hydroxide root canal sealers – histopathologic evaluation of apical and periapical repair after endodontic treatment. J Endod. 1997;23:428-32.

Leonardo MR. Endodontia: Tratamento de Canais Radiculares: Princípios Técnicos e Biológicos. São Paulo: Ed. Artes Médicas; 2005a.

Leonardo MR. Filosofia do tratamento de canais radiculares. Biopulpectomia: conceitos biológicos e princípios técnicos. In: Leonardo MR. Endodontia: tratamento de canais radiculares: princípios técnicos e biológicos. São Paulo: Artes Médicas, 2005b. cap. 5, p.99-122.

Martinho FC, Chiesa WMM, Marinho ACS, Zaia AA, Ferraz CCR, Almeida JFA, Souza-Filho FJ, Gomes BPFA. Clinical investigation of the efficacy of chemomechanical preparation with Rotary Nickel-Titanium Files for removal of endotoxin from primarily infected root canals. J Endod. 2010;35:1766-69.

Molven O, Olsen I, Kerekes K. Scanning electron microscopy of bacteria in the apical part of root canals in permanent teeth with periapical lesions. Endod Dent Traumatol. 1991;7:226-9.

Nagas E, Cebrelli ZC, Durmaz V. Effect of light-emitting diode photopolymerization modes on the push-out Bond strength of a methacrylate-based sealer. J Endod. 2001;37:832-835.

Nair PNR, Sjögren U, Krey G, Kahnberg K-E, Sundqvist G. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: A long-term light and electron microscopic follow-up study. *J Endod.* 1990;16:580-88.

Nair PNR. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004;15:348-81.

Nakabayashi N, Kojima K, Masubara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res.* 1982;16:265-9.

Nerwich A, Figdor DI, Messer HH. pH changes in root dentin over a 4-week period following root canal dressing with calcium hydroxide. *J Endod.* 1993;19:302-6.

Onay EO, Ungor M, Ozdemir BH. In vivo evaluation of the biocompatibility of a new resin-based obturation system. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007;104:e60-e66.

Paul PL, Van Meerbeek B, Bergmans L, Moisisidis P. Environmental and normal Fe-SEM evaluation of Endo-Rez leakage inside dentinal tubules. Catholic University of Leuven – Belgium U. Z. St. Rafael, Biomat – Research Cluster, 2007.

Pereira CC, Oliveira EPM, Gomes MS, Della-Bona A, Vanni JR, Kopper PMP, Figueiredo JAP. Comparative in vivo analysis of the sealing ability of three endodontic sealers in dog teeth after post-space preparation. *Aust Endod J.* 2007;33:101-6.

Pommel L, About I, Pashley DH, Camps JJ. Apical leakage of four endodontic sealers. *J Endod.* 2003;29:208-10.

Prado M, Simão RA, Gomes BPFA. Effect of different irrigation protocols on resin sealer Bond strength to dentin. *J Endod.* 2013;39:689-692.

Ribeiro FC. Distribuição de bactérias nas estruturas mineralizadas de dentes com necrose pulpar e granuloma apical [dissertação]. Bauru: USP, Faculdade de Odontologia de Bauru; 1997.

Roth KA, Friedman S, Lévesque CM, Basrani BR, Finer Y. Microbial biofilm proliferation within sealer-root dentin interfaces is affected by sealer type and aging period. *J Endod.* 2012;38:1253-1256.

Rueda JCA. Material obturador de canal radicular à base de uretano metacrilato: estudo histológico e da infiltração coronária em dentes de cães [dissertação]. Araraquara: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia; 2006.

Scarpato RK, Grecca FS, Fachin EVF. Analysis of tissue reactions to Methacrylate resin-based, Epoxy resin-based, and zinc oxide-eugenol endodontic sealers. *J Endod.* 2009;35:229-32.

Schafer E, Zandbiglari T. Solubility of root-canal sealers in water and artificial saliva. *Int Endod J.* 2003;36(10):660-9.

Schwartz DB, Skidmore AE, Griffin JA. Twenty years of endodontic success and failure. *J Endod.* 1983;9:198-202

Schwartz RS. Adhesive dentistry and endodontics. Part 2: Bonding in the root canal

- system – the promise and the problems: a review. *J Endod.* 2006;32:1125-34.
- Shipper G, Orstavik D, Teixeira FB, Trope M. An evaluation of microbial leakage in roots filled with a thermoplastic synthetic polymer-based root canal filling material (Resilon). *J Endod.* 2004;30:342-7.
- Shipper G, Teixeira FB, Arnold RR, Trope M. Periapical inflammation after coronal microbial inoculation of dog roots filled with gutta-percha or resilon. *J Endod.* 2005 Feb;31(2):91-6.
- Shrestha D, Wei X, Wu W-C, Ling J-Q. Resilon: a methacrylate resin-based obturation system. *J Dent Sci.* 2010;5:47-52.
- Silva LAB, Nelson Filho P, Leonardo MR, Rossi MA, Pansani CA. Effect of calcium hydroxide on bacterial endotoxin in vivo. *J Endod.* 2002;28:94-8.
- Silva LAB. Cimentos obturadores de canal radicular à base de hidróxido de cálcio. Avaliação histopatológica do reparo apical e periapical em dentes de cães, da resposta inflamatória em tecido subcutâneo de camundongos. Análise do pH, concentração de cálcio total e condutividade [tese de livre-docência]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto; 1995.
- Silva LAB. Rizogênese incompleta: efeito dos curativos de demora e expectantes, no tratamento de canais radiculares de dentes de cães com reação periapical crônica. Avaliação radiográfica e histopatológica [tese]. Araraquara: UNESP, Faculdade de Odontologia de Araraquara; 1991.
- Siqueira JF Jr, Favieri A, Gahyva SM, Moraes SR, Lima KC, Lopes HP. Antimicrobial activity and flow rate of newer and established root canal sealers. *J Endod.* 2000 May;26(5):274-7.
- Sjögren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G. influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 1997;30:297-306
- Sjögren, U. Success and failure in endodontics [dissertation]. Umea, Sweden: Umea University; 1996.
- Soares JA, Leonardo MR, Silva LAB, Tanomaru Filho M, Ito IY. Histomicrobiologic aspects of the root canal system and periapical lesions in dog's teeth after rotary instrumentation and intracanal dressing with Ca(OH) pastes. *J Appl Oral Sci.* 2006a;14:355-64.
- Soares JA, Leonardo MR, Silva LAB, Tanomaru Filho M, Ito IY. Elimination of intracanal infection in dog's teeth with induced periapical lesions after rotary instrumentation: Influence of different calcium hydroxide pastes. *J Appl Oral Sci.* 2006b;14:172-7.
- Soares JA, Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Silva LAB, Ito IY. Effect of biomechanical preparation and calcium hydroxide pastes on the anti-sepsis of the root canal system in dogs. *J Appl Oral Sci.* 2005;13:93-100.
- Sousa CJ, Sousa CJ, Montes CR, Pascon EA, Loyola AM, Versiani MA. Comparison of the intraosseous biocompatibility of AH Plus, EndoREZ, and Epiphany root canal sealers. *J*

Endod. 2006 Jul;32(7):656-62.

Sritharan A. Discuss that the coronal seal is more important than the apical seal for endodontic success. Aust Endod J. 2002;28(3):456-62.

Stratton RK, Apicella MJ, Mines P. A fluid filtration comparison of gutta-percha versus Resilon, a new soft resin endodontic obturation system. J Endod. 2006 Jul;32(7):642-5.

Sundqvist G. Ecology of the root canal. J Endod. 1992;18:427-430.

Suzuki P, Souza V, Holland R, Murata SS, Gomes-Filho JE, Dezan Junior E, Passos TR. Tissue reaction of the EndoREZ in root canal fillings short o for beyond na apical foramenlike communication. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2010;109:e94-e99.

Tagami J, Tao I, Pashley DH. Correlation among dentin depth, permeability, and Bond strength of adhesive resin. Dent Mater. 1990;6:45-50.

Tanomaru Filho M, Leonardo MR, Silva LAB, Utrilla LS. Effect of different root canal sealers on periapical repair of teeth with chronic perirradicular periodontites. Int Endod J. 1998;31:85-89

Tanomaru Filho M, Leonardo MR, Silva LAB, Utrilla LS. Effect of different root canal sealers on periapical repair of teeth with chronic perirradicular periodontites. Int. Endod. J. Oxford. 1998 Mar; 31(2):85-89.

Tao I, Pashley DH. Shear Bond strengths to dentin: effects of surface treatments, depth and position. Dent Mater. 1988;4:371-8.

Tay FR, Hiraishi N, Pashley DH, Goracci C. Bondability of Resilon to a methacrylate-based root canal sealer. J Endod. 2006;32:133-7.

Teixeira FB, Teixeira EC, Thompson JY, Trope M. Fracture resistance of roots endodontically treated with a new resin filling material. J Am Dent Assoc. 2004;135:646-52.

Tronstad L, Barnett F, Cervone F. Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment. Endod Dent Traumatol. 1990;6:73-7.

Tronstad L, Barnett F, Riso K, Slots J. Extraradicular Endodontic infections. Endod Dent Traumatol. 1987;3:86-90.

Tronstad L, Kreshtod D, Barnett F. Microbiological monitoring and results of treatment of extraradicular endodontics infection. Endod Dent Traumatol 1990;6:129-36.

Trope M, Delano EO, Orstavik D. Endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: single vs. multivisit treatment. J Endod. 1999;25(5):345-50.

Tunga U, Bodrumlu E. Assessment of the sealing ability of a new root canal obturation material. J Endod. 2006 Sep;32(9):876-8.

Wilkinson KL, Beeson TJ, Kirkpatrick TC. Fracture resistance of simulated immature teeth filled with Resilon, gutta-percha, or composite. J Endod. 2007;33:480-3.

Williams C, Loushine RJ, Weller RN, Pashley DH, Tay FR. A comparison of cohesive strength and stiffness of Resilon and gutta-percha. *J Endod*. 2006;32:553-555.

Wu MK, Tigos E, Wesselink PR. An 18-month longitudinal study on a new silicon-based sealer, RSA RoekoSeal: a leakage study in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002;94(4):499-502.

Yang SE, Bae KS. Scanning electron microscopy study of the adhesion of *Prevotella nigrescens* to the dentin of prepared root canals. *J Endod*. 2002;28:433-7.

Zmener O, Pameijer CH, Kokubu GA, Grana DR. Subcutaneous connective tissue reaction to Methacrylate resin-based and zinc oxide and eugenol sealers. *J Endod*. 2010;36:1574-9.

Zmener O, Pameijer CH, Serrano SA, Vidueira M, Macchi RL. Significance of moist root canal dentin with the use of methacrylate-based endodontic sealers: an in vitro coronal dye leakage study. *J Endod*. 2008 Jan;34(1):76-9.

Zmener O, Pameijer CH. Clinical and radiographic evaluation of a resin-based root canal sealer: an eight-year update. *J Endod*. 2010;36:1311-14.

Zmener O, Pameijer CH. Clinical and radiographical evaluation of a resin-based root canal sealer: a 5-year follow-up. *J Endod*. 2007 Jun;33(6):676-9.

Zmener O. Tissue response to a new methacrylate-based root canal sealer: preliminary observations in the subcutaneous connective tissue of rats. *J Endod*. 2004 May;30(5):348-51.