



BAHIANA
ESCOLA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

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

PAULA MACIEL BRANDÃO

INFLUÊNCIA DA INSTRUMENTAÇÃO DO CANAL CEMENTÁRIO NO REPARO
DE LESÕES PERIAPICAIS: ESTUDO EM RATOS

SALVADOR

2014

PAULA MACIEL BRANDÃO

**INFLUÊNCIA DA INSTRUMENTAÇÃO DO CANAL CEMENTÁRIO NO REPARO
DE LESÕES PERIAPICAIS: ESTUDO EM RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração em Clínica.

Orientador: Prof. Dr. Ronaldo Araújo Souza

SALVADOR

2014

PAULA MACIEL BRANDÃO

**INFLUÊNCIA DA INSTRUMENTAÇÃO DO CANAL CEMENTÁRIO NO REPARO
DE LESÕES PERIAPICAIS: ESTUDO EM RATOS**

Comissão Julgadora

Membros Titulares

Prof^ª. Dr^ª. Alena Ribeiro Alves Peixoto Medrado

Doutora em Patologia Humana

Professora Adjunto do Curso de Odontologia da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública.

Professora Adjunto da Universidade Federal da Bahia

Prof^ª. Dr^ª. Eneida Barros Santos de Araújo

Doutora em clínica odontológica (concentração endodontia)

Coordenadora do Curso de Graduação em Odontologia da Faculdade de Tecnologia e Ciências de Salvador (FTC)

Professora Titular da Faculdade de Tecnologia e Ciências de Salvador (FTC)

Prof. Dr. Sílvio José Albergaria da Silva

Professor Livre Docente pela Universidade Gama Filho

Professor Titular da Universidade Federal da Bahia

Membro suplente

Prof. Dr^ª Silvia Regina de Almeida Reis

Doutora em Odontologia

Vice-coordenadora do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública

Professora Adjunto do Curso de Odontologia da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública

**SALVADOR
2014**

INSTITUIÇÕES ENVOLVIDAS



**Aos meus pais, Rose e Luis Fernando,
pela vida, dedicação e amor incondicional.
Dedico todo o meu respeito e admiração.**

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Rose e Luis Fernando Brandão, pelo amor incondicional, incentivo, renúncia e valores repassados a mim! Nunca mediram esforços para proporcionar a melhor educação e para que todos os meus sonhos se realizassem! Vocês são os meus mais admirados exemplos de vida!

Aos meus irmãos Flávia, Marta e Alexandre pela presença constante na minha vida, pelo carinho e amizade!

A Eduardo Schnitman, pelo carinho, compreensão e incentivo. Sempre ao meu lado apoiando todas as minhas escolhas.

À Faculdade Bahiana de Odontologia, na pessoa do seu atual diretor Prof. Dr. Urbino da Rocha Tunes, pela oportunidade da realização do mestrado.

Ao meu orientador Prof. Dr. Ronaldo Araújo Souza pelo exemplo de ética, caráter e respeito. Além da sua orientação, agradeço a transmissão de conhecimentos durante toda a minha formação que foram de extrema importância tanto acadêmica quanto profissional.

Ao Prof. Dr. José Antônio Poli de Figueiredo pelas oportunidades oferecidas para execução desse trabalho. Sem dúvida, o senhor é um exemplo de dedicação ao ensino e à pesquisa.

Aos colegas do mestrado que compuseram esta turma tão especial pela maravilhosa convivência, ajuda constante, aprendendo imensamente com cada um deles, e ainda, pela constante demonstração de companheirismo e amizade.

Aos colegas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Cauana, Gabriela, Rafael, Renata, Roberta e Silvana pela ajuda oferecida durante toda execução da parte experimental! Seria muito difícil sem vocês!

Aos queridos professores da Endodontia, Prof. João Dantas, Prof. Maurício Lago, e Prof.a. Suely Colombo pelos conhecimentos transmitidos e agradável convivência.

Com certeza vocês foram os responsáveis pelo meu amor a Endodontia.

A Deus pelo dom da vida.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a conclusão dessa etapa.

Muito obrigada!!

“Cantar e cantar e cantar a beleza de ser um eterno aprendiz”

Gonzaguinha

RESUMO

A infecção do sistema de canais radiculares e a dificuldade na sua eliminação constituem a maior razão do insucesso do tratamento endodôntico. Por sua vez, a complexidade anatômica do sistema de canais radiculares e a dificuldade de sua visualização explicam a dificuldade para se alcançar o controle de infecção e representam um grande desafio para o endodontista. Nesse sentido, os obstáculos parecem se acentuar no terço apical. Por essa razão, destaca-se a necessidade de se ter grande conhecimento da anatomia desse segmento do canal, para que as melhores condições de eliminação dos microrganismos sejam criadas, resultando em maiores chances de sucesso no tratamento endodôntico. Este trabalho tem como objetivos realizar uma revisão da literatura com intuito de conhecer os aspectos morfológicos dessa região e analisar a possibilidade de tornar mais efetivo o tratamento endodôntico através da patência do forame e instrumentação do canal cementário.

Palavras Chave: Lesão Periapical. Patência foraminal. Instrumentação do Canal Cementário.

ABSTRACT

The infection of the root canal system and the difficulty to neutralize the bacterial invasion constitute the major reason for endodontic failure. The anatomical complexity of the root canal system and inaccessible visualization may explain the difficulty in achieving control of infection and represent a major challenge for the endodontist. These difficulties seem to be accentuated in the apical third. Thus, there is a need to expand the knowledge of the anatomy of this segment of the root canal, so that the best conditions for removal of microorganisms are created to increase the chances of success in root canal treatment. In this article we review the current understanding of the morphology of root canal systems and discuss relevant factors associated with the effectiveness of the apical patency and cleaning of the cemental canal during root canal preparation.

Keywords: Periapical lesion. Apical patency. Instrumentation of cemental canal.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Amostra utilizada (Ratos Wistar com 2 meses de idade).....	36
Figura 2: Anestesia Intraperitoneal no Rato.....	37
Figura 3: Medicamentos utilizados na anestesia.....	38
Figura 4: Dispositivo para abertura bucal.....	39
Figura 5: Inserção do dispositivo para abertura bucal no rato.....	39
Figura 6: Mesa operatória especial.....	40
Figura 7: Animal posicionado na mesa operatória especial.....	40
Figura 8: Acesso à fossa mesial do 1º molar inferior.....	41
Figura 9: Exposição Pulpar.....	42
Figura 10: Microscópio Alliance.....	43
Figura 11: Localizador Apical SybronEndo.....	44
Figura 12: Tomada radiográfica.....	44
Figura 13: Radiografia Periapical CT.....	45
Figura 14: Mandíbulas dissecadas.....	47
Figura 15: Delimitação da lesão periapical.....	50
Figura 16: Radiografia do lado controle. Espécime do grupo 1.....	51
Figura 17: Radiografia do lado instrumentado. Espécime do grupo 1.....	51
Figura 18: Dente com instrumentação do canal cementário – HE 40X.....	54
Figura 19: Maior aumento da figura anterior– HE 100X.....	54
Figura 20: Dente com instrumentação do canal cementário – HE 40X.....	55
Figura 21: Maior aumento da figura anterior– HE 100X.....	55

Figura 22: Radiografia do lado controle. Espécime do grupo 2.....	56
Figura 23: Radiografia do lado instrumentado. Espécime do grupo 2.....	56
Figura 24: Dente sem instrumentação do canal cementário – HE 40X.....	59
Figura 25: Maior aumento da figura– HE 100X.....	59
Figura 26: Dente sem instrumentação do canal cementário- HE 40X.....	60
Figura 27: Maior aumento da figura anterior- HE 100X.....	60
Figura 28: Dente sem instrumentação do canal cementário – HE 40X.....	61
Figura 28: Dente sem instrumentação do canal cementário – HE 40X.....	61
Figura 30: Dente sem instrumentação do canal cementário – HE 100X.....	62

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Intensidade do infiltrado inflamatório (p=0,038).....	64
Gráfico 2: Reabsorção do cimento apical (p: 0,106).....	65
Gráfico 3: Neoformação de cimento/ selamento biológico (p:0,040).....	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Tamanho da área da lesão em mm do lado controle e do grupo 1.....	52
Tabela 2: Grupo 1- Escores atribuídos aos 3 itens analisados em todos os espécimes do grupo.....	53
Tabela 3: Tamanho da área da lesão em mm do lado controle e do grupo 2.....	57
Tabela 4: Grupo 2 - Escores atribuídos aos 3 itens analisados em todos os espécimes do grupo.....	58
Tabela 5: Média do tamanho da lesão das amostras do lado instrumentado.....	63
Tabela 6: Média do tamanho da lesão das amostras do lado não instrumentado.....	63
Tabela 7: Intensidade do infiltrado inflamatório.....	64
Tabela 8: Reabsorção do cimento apical.....	65
Tabela 9: Neoformação de cimento/selamento biológico.....	66

LISTA ABREVIATURAS E SIGLAS

CA: Constrição Apical

LIMITE CDC: Limite Junção- Dentino-Cementária

FA: Forame Apical

NiTi: Níquel-titânio

CT: Comprimento de Trabalho

PUCRS: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

COBEA: Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

CCEFO: Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia

CEUA: Comitê de Ética no Uso de Animais

NaOCl: Hipoclorito de sódio

HE: Hematoxilina-eosina

ICC: Coeficiente de Correlação Intraclasse

TC: Tomografia computadorizada

SUMÁRIO

1.0. INTRODUÇÃO	17
2.0. REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1. Anatomia do terço apical.....	18
2.2. Patência foraminal e limpeza do canal cementário.....	19
3.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	25
REFERÊNCIAS.....	26
MANUSCRITO II.....	30
RESUMO.....	31
ABSTRACT.....	32
4.0. INTRODUÇÃO	33
5.0. METODOLOGIA.....	35
5.1. Delimitação e Cálculo da Amostra.....	36
5.2. Indução das lesões periapicias.....	41
5.3. Formação dos Grupos Experimentais.....	42
5.4. Tratamento endodôntico	43
5.5. Eutanásia dos Ratos, Processamento Peças Obtidas e Obtenção das Radiografias.....	46
5.6. Análise Histológica.....	48
5.7. Análise Radiográfica.....	49
5.8. Análise Estatística.....	50
6.0. RESULTADOS	51
6.1. Resultados Grupo 1.....	51
6.2. Resultados Grupo 2.....	56
6.3. Análise Estatística.....	62
7.0. DISCUSSÃO.....	67
7.1. Escolha do modelo experimental.....	67
7.2. Lesão Periapical.....	68
7.3. Preparo do canal.....	69
7.4. Determinação do comprimento de trabalho.....	70
7.5. Obturação do canal radicular.....	72
7.6. Escolha método radiográfico.....	72
7.7. Resultados.....	73
8.0 CONCLUSÃO.....	78
REFERÊNCIAS	79
ANEXO A	
ANEXO B	

MANUSCRITO I

A IMPORTÂNCIA DA PATÊNCIA FORAMINAL E INSTRUMENTAÇÃO DO CANAL CEMENTÁRIO NO TRATAMENTO ENDODÔNTICO

1. INTRODUÇÃO

A sequência operatória do tratamento endodôntico requer cuidados em todas os seus passos, desde o diagnóstico até o tratamento restaurador coronário. Uma das etapas importantes na terapia é a limpeza, desinfecção e modelagem do sistema de canais radiculares, pois a presença de microrganismos e seus sub produtos representam um dos fatores responsáveis pela instalação e manutenção das patologias pulpares e periapicais que estão intimamente relacionadas com os insucessos do tratamento¹.

Simon² preconiza que, durante as etapas de limpeza e modelagem do sistema de canais, os 3 milímetros finais dos canais radiculares devem ser considerados uma zona crítica. Especialmente nesta região é esperado o acúmulo de fragmentos de tecido pulpar e raspas de dentina produzidas pela instrumentação, podendo resultar no bloqueio do acesso ao terço apical em toda sua extensão, entupimento do canal e bombeamento desse material além do forame apical³. Buchanan⁴ define patência apical como o procedimento no qual a porção apical do canal radicular é mantida livre de detritos pela passagem de uma lima fina e flexível pela constrição apical, sem ampliá-la.

Na região mais apical, uma vez que a necrose pulpar apresenta alteração inflamatória periapical, estudos histopatológicos mostram a presença de micro-organismos e seus subprodutos alojados em ramificações, deltas, lacunas de reabsorção radicular e túbulos dentinários⁵. Para esses casos Souza⁶ recomenda que também se faça uma instrumentação do canal cementário para que o canal radicular seja limpo e assim ocorra a remoção desses patógenos. Tal indicação gera, inevitavelmente, a ampliação do forame apical.

Por outro lado, o efeito mecânico consequente da instrumentação além da constrição apical sobre sua forma ainda é motivo de controvérsia. Para Ricucci e Langeland⁷, essa instrumentação resulta numa reação inflamatória periapical dificultando processo de reparo, razão pela qual preconizam a instrumentação apenas no interior do canal dentinário.

Poucas pesquisas experimentais foram realizadas sobre as consequências da instrumentação do canal cementário ou a melhor maneira de realizá-la. Outros aspectos que ainda deixam dúvidas estão relacionados à verificação da influência dessa técnica na limpeza do canal

radicular, em sua desinfecção, no extravasamento de detritos ou material obturador, na dor pós-operatória e/ou edema e, principalmente, no índice de sucesso do tratamento endodôntico.

Contudo, graças à reconhecida complexidade anatômica do sistema de canais radiculares e a dificuldade de sua visualização, eternos desafios para o endodontista, destaca-se a necessidade de se ter um grande conhecimento dessa anatomia, para que se possa ter melhores condições de eliminar os micro-organismos presentes⁸.

O objetivo do estudo é realizar uma revisão de literatura sobre a anatomia do terço apical e analisar a possibilidade de tornar mais efetivo o tratamento endodôntico através da patência do forame e instrumentação do canal cementário.

2.0. REVISÃO DISCUTIDA DA LITERATURA

2.1 Anatomia do terço apical

O estudo morfológico do terço apical é definido como o conhecimento dos tecidos e das estruturas anatômicas que o compõem além dos seus respectivos limites⁹. A sua compreensão é de suma importância, visto que no exame radiográfico utilizado diariamente na prática clínica não se obtém a morfologia exata da raiz.

Na região mais apical, microrganismos podem estar presentes no canal principal, além de estarem alojados em ramificações, deltas, lacunas de reabsorção radicular e túbulos dentinários⁵. Portanto o preparo deficiente do terço apical pode acarretar a perpetuação de microrganismos, levando ao insucesso do tratamento endodôntico⁹.

O canal radicular é constituído de dois cones opostos: um cone maior que ocupa praticamente toda a sua extensão, o canal dentinário, onde está contida a polpa, e outro, bem menor, o canal cementário, constituído por tecido periodontal¹⁰. Didaticamente o conceito clássico de anatomia do ápice radicular é baseado em três divisões anatômicas e histológicas: constrição apical (CA), junção dentino-cementária (limite CDC), e o forame apical (FA)¹¹.

O ponto de constrição apical, também conhecido como forame apical menor, foi descrito como a porção mais estreita do canal e representa o local em que a polpa e o tecido periodontal se limitam. O forame apical, também conhecido como forame apical maior,

apresenta-se como uma circunferência no fim do canal radicular e constitui a sua saída da raiz².

A junção cimento-dentinária, também conhecida como limite CDC (canal-dentina-cemento), é o ponto de encontro desses dois cones, variável em função da extensão do canal cementário. Existe uma variação morfológica natural dos ápices radiculares com o aumento da idade devido a contínua e gradual deposição de cimento, causando um aumento da distância do forame apical menor ao ápice radicular^{12,13}.

Há um consenso universal de que o limite CDC é a porção mais estreita do canal radicular, ou seja, a constrição apical, ficando aí estabelecido o limite apical para a obturação. Porém, esse conceito tem sido questionado visto que o limite CDC e a constrição apical, na maioria das vezes, não constituem o mesmo ponto anatômico. Estima-se assim que sua posição é de aproximadamente 1 mm aquém do ápice radicular radiográfico¹¹. Para Ponce e Fernandez¹⁴ a constrição apical e o forame apical não são referências anatômicas confiáveis para definir o limite apical durante a instrumentação, visto que o ponto de encontro dos tecidos são passíveis de variação.

De acordo com Hassanien *et al.*,¹⁵ o limite CDC é apenas uma condição histológica e não uma posição clínica no sistema de canais radiculares, e sua localização em relação ao forame apical pode ser dependente de outros fatores, como aumento da deposição de cimento ou reabsorção radicular. Ambos os processos são fortemente influenciados pela idade, trauma, movimentação ortodôntica, patologia perirradicular ou doença periodontal.

A localização do forame apical, comumente conhecido como forame maior, tem sido objeto de investigação tanto de estudos mais antigos^{12,16} quanto de pesquisas mais recentes^{17,18}, visto que na maioria das vezes ele não coincide com o ápice radicular radiográfico. Relatam que geralmente o forame maior apresenta-se desviado do ápice radicular nos valores de 50% a 100% nos diferentes estudos.

2.2 Patência foraminal e limpeza do canal cementário

O preparo do canal radicular é uma etapa imprescindível do tratamento endodôntico. Os aspectos mecânicos de instrumentação devem ser baseados em princípios biológicos que envolvam tanto a extensão apical do preparo do sistema de canais, quanto o entendimento de

que a remoção do remanescente pulpar é de grande importância para se melhorar o sucesso endodôntico¹⁹. Entretanto, o limite apical de trabalho tem sido um dos temas mais controversos na Endodontia.

Muitos autores acreditam que o tratamento endodôntico deva ser realizado no canal dentinário (1-2 mm aquém do ápice radiográfico) para preservar o coto pulpar nos casos de polpa viva, evitando danos aos tecidos apicais e periapicais^{7,20}.

Entretanto, nos casos de necrose pulpar e infecção do canal, sabe-se que essa porção não instrumentada do canal possui espaço físico suficiente para abrigar uma quantidade significativa de micro-organismos^{21,22}. Particularmente nos canais com lesão periapical, o terço apical, onde se inclui o canal cementário, está infectado, com predomínio de bactérias anaeróbias^{23,24,25,26}. Dessa maneira, atualmente registra-se uma tendência de se incluir o canal cementário no preparo do canal, procedimento comumente conhecido como limpeza do forame^{27,28,29,30}.

De acordo com Souza⁶, ao se fazer a limpeza do forame automaticamente mantém-se a sua patência, entretanto, realizar a patência não significa fazer a limpeza do forame. O instrumento responsável pela manutenção da patência chega ao forame, confere a sua acessibilidade e é removido, sem portanto manipular com efeito de limpeza. O objetivo desta patência é impedir que raspas de dentina, que estão sendo produzidas pelo preparo químico-mecânico, sejam depositadas sobre o forame, evitando a obliteração do mesmo.

Em 1989, Buchanan⁴ descreveu patência apical como um procedimento que consiste na passagem de uma lima fina passivamente pela constrição apical sem, contudo, ampliá-la, visando a manutenção do comprimento de trabalho e uma porção apical livre de detritos. Esse procedimento tem sido preconizado por várias escolas em todo o mundo³¹. Para Lopes e Siqueira Jr.,⁵ a necessidade de realização da patência é justificada por motivos biológicos e mecânicos, tanto no tratamento de dentes polpados quanto no de dentes despulpados.

Já a limpeza do canal cementário é preconizada por alguns autores para os casos de necrose pulpar, com ou sem lesão periapical. A sua realização em tratamento endodôntico de canais com polpa viva é uma indicação menos frequente. Para este procedimento é preciso passar além do forame apical menor com uma lima que movimenta o conteúdo do canal radicular em

seu milímetro final, auxiliando em sua limpeza, com o efeito adicional e concomitante de evitar a condensação de raspas de dentina, contaminadas ou não, compactadas junto com outros detritos – fragmentos de tecido pulpar, micro-organismos, resíduos de obturação prévia e outras substâncias com as quais as limas tenham contato e possam projetar para essa região^{19, 27, 32}.

Para Ribeiro *et al.*,³³ a patência deve ser realizada apenas em casos de dentes com necrose pulpar, pois estes encontram-se contaminados principalmente por micro-organismos anaeróbios. Estudos histopatológicos mostram a presença de micro-organismos e seus subprodutos alojados em ramificações, deltas, lacunas de reabsorção radicular e túbulos dentinários⁵. Para esses casos tem sido recomendado que a instrumentação seja estendida ao forame apical para que o canal radicular seja limpo e assim ocorra a remoção desses patógenos^{10,34}.

Trabalhos na literatura mostram a instrumentação e alargamento do canal cementário como fator fundamental para o processo de reparo apical^{28,29,30}.

Souza⁶ ressalva que, apesar de todas as técnicas causarem algum grau de extrusão de material para os tecidos periapicais, manipular o forame apical deve apresentar uma chance maior de reparo quando comparado à instrumentação a 1 mm aquém. Justifica dizendo que para indução da cementogênese é necessário ausência de infecção e deixar de limpar essa porção apical reduziria as chances de reparo³². Para minimizar o risco de extrusão, De Deus³⁵ recomenda que o movimento de limagem deve ser evitado, razão pela qual preconiza apenas a utilização do movimento rotacional.

O tamanho do alargamento apical influenciou significativamente na redução ou eliminação de endotoxinas nos canais radiculares preparados com instrumentação rotatória em toda extensão do canal³⁶. Marinho *et al.*,³⁶ avaliaram em 40 canais de pré-molares inferiores a influência do tamanho alargamento apical usando instrumentos rotatórios na redução do nível de endotoxinas de canais radiculares dentários. A instrumentação foi realizada com o Mtwo[®] sistema rotativo na seqüência 10/.04, 15/.05, 20/.06, 25/.06, 30/.05, 35/.04 e 40/.04, sendo encontrado melhores resultados nos grupos que foram alargados com as limas 35/.04 e 40/.04.

O aumento do calibre da lima durante a instrumentação do canal cementário produz uma maior redução dos detritos remanescentes e limpeza mais efetiva^{36,37}, contudo nenhuma lima por mais calibrosa que seja pode preparar completamente as suas paredes³⁸, visto que não consegue tocar por completo nas mesmas.

Fornari *et al.*,³⁸ relataram uma limpeza mais eficaz em raízes severamente curvas quando os instrumentos de maior diâmetro são utilizados, apresentando uma menor quantidade de detritos remanescentes e paredes intocadas, porém nenhuma técnica e aumento de calibre pode garantir uma limpeza completa das paredes do canal radicular

Butler²⁸ preconizou que o forame apical deve ser instrumentado inicialmente com uma lima que se ajusta perfeitamente a constrição do canal, seguida de mais dois tamanhos. Porém Souza *et al.*,³⁹ ao analisar o ajuste da lima no forame apical em incisivos centrais superiores através de microscopia eletrônica de varredura, observaram diferença significativa entre o raio da lima e forame apical, sugerindo que para uma melhor relação de ajuste entre ambos seriam necessárias 4 limas de maior calibre além daquela adaptada ao forame apical menor.

A limpeza do forame ainda não é procedimento adotado rotineiramente e uma das razões para isso é o receio de causar trauma aos tecidos periapicais e conseqüentemente dor pós-operatória^{3,6,40,41}.

Ricucci e Langeland⁷ sugere que a instrumentação deva ser realizada apenas no canal dentinário, acreditando que a instrumentação do canal cementário possa atrasar o processo de reparo. O autor encontrou piores resultados quando a instrumentação foi realizada além da constrição apical e melhores resultados no limite da mesma.

De acordo com Silva *et al.*,⁴¹ a ampliação do forame apical tem pouca ou nenhuma influência na dor pós-operatória e deve ser aplicada para promover uma melhor desinfecção. Acreditam esses autores que esse procedimento aumenta o sucesso do tratamento endodôntico e a previsibilidade do reparo periapical.

Para Souza³², o ato da instrumentação do canal e a própria instrumentação do forame apical devem provocar trauma com resposta inflamatória e formação de edema. Contudo, uma vez bem realizado e mantido o forame desbloqueado, a inexistência ou alívio da dor pela

drenagem desse edema para o forame apical e consequente descompressão tecidual, deverá ser a resposta dos tecidos periapicais.

Outra causa de dor pós-operatória é a extrusão de material para os tecidos periapicais. A sobreinstrumentação pode representar um fator de agressão aos tecidos periapicais e causar dor. Estudos anteriores demonstraram que a extrusão de material para a região periapical varia de acordo com a curvatura da raiz, técnicas de instrumentação e irrigação e patência apical^{42,43}.

Borges *et al.*,⁴⁴ ao avaliarem a influência do alargamento apical na limpeza e extrusão em canais com curvaturas leves e moderadas, encontraram maior valor de extrusão nos canais com curvatura suave quando instrumentada com maior instrumento, que pode ser explicado pelo maior alinhamento do forame e a direção do canal, além de estar envolvida um maior aumento da pressão de soluções irrigadoras quando comparada com curvaturas mais acentuadas.

Com o aumento do diâmetro da região da constrição apical observa-se uma quantidade maior de extravasamento de raspas de dentina e hipoclorito de sódio do interior do canal radicular⁴⁵. Além disso, a irrigação com substâncias químicas, se utilizada com pressão intensa, pode causar complicações para os tecidos perirradiculares. Para minimizar a extrusão de substância química aos tecidos periapicais, e consequentemente a dor pós-operatória, recomenda-se que a irrigação seja realizada com cuidado, com pressão suave sobre o êmbolo da seringa irrigadora permitindo o refluxo do irrigante através da cavidade de acesso⁴⁵.

Outro motivo aliado à resistência de realizar a limpeza do canal cementário é o fato de alguns autores acreditarem que a solução irrigadora e a mediação intracanal por si só seriam suficientes para ocorrer a desinfecção do canal radicular. Porém, durante a instrumentação, raspas de dentina acabam se acumulando na região do terço apical e o tampão apical formado pode impedir a ação dessas substâncias químicas nessa zona infectada⁴⁶. Coldero *et al.*,⁴⁷ acreditam que sendo efetuada uma correta instrumentação no terço coronário, este é suficiente para permitir o acesso das substâncias irrigadoras na região apical, não havendo necessidade de um alargamento apical.

A associação entre a ampliação do forame apical e a qualidade da obturação do canal radicular também foi motivo de estudo.

Da Silva⁴⁸ avaliou a influência do alargamento foraminal na alteração da morfologia da anatomia apical e no selamento da obturação. Apesar de terem observado formação de mais desvios da anatomia apical com preparo 1 mm além do forame, estes desvios não alteraram o selamento da obturação, sendo encontrado melhor resultado na qualidade da obturação no grupo em que foi realizado o alargamento apical.

Com o mesmo intuito, Winocur⁴⁹ comparou duas técnicas de preparo, com e sem ampliação foraminal em relação ao selamento da obturação e observaram maior alteração do forame com ampliação. Porém para obturação isso não teve influência já que houve vedamento de 100% da região apical após obturação, favorecendo amplamente o selamento foraminal.

Atualmente, a instrumentação manual vem sendo substituída pela instrumentação rotatória, devido a maior flexibilidade das limas de níquel-titânio (NiTi) utilizadas nesse sistema em relação ao aço inoxidável, permitindo um melhor acompanhamento das curvaturas do canal radicular³⁷.

Comparando a técnica manual e rotatória, no intuito de avaliar a quantidade de extrusão para os tecidos periapicais, Kustarci *et al.*,⁴² observaram extrusão menor nos canais instrumentados com técnica rotatória quando comparada com técnica manual. Tinaz *et al.*,⁴⁴ demonstraram que o alargamento de ambas foi regular, não apresentando diferença estatisticamente significativa e sugerindo que divergências com resultados anteriores da literatura pode ter sido pelo fato de terem realizado movimento de rotação durante a instrumentação mecânica ao invés de limagem.

Por sua vez, comparando as duas técnicas realizadas com patência e ampliação foraminal em relação à morfologia do forame apical, Endo *et al.*,⁵⁰ observaram que ambas apresentaram alargamento regular do forame.

Ao comparar dois sistemas rotatórios diferentes na instrumentação, Lima *et al.*,³⁷ observaram que as limas rotatórias utilizadas no estudo atingiram o objetivo de ampliar o forame, realizando assim uma limpeza adequada. Porém, encontraram um maior alargamento com o Sistema Mtwo® que no conjunto de limas Pro-desing® do Sistema Easy Endo Slim®. Este resultado pode ser explicado pelo diâmetro da ponta e a conicidade das limas rotatórias utilizadas.

3.0. Considerações Finais

A anatomia do terço apical apresenta uma grande variação na sua morfologia e exige um conhecimento para o seu adequado preparo. Tendo em vista que o controle de infecção é o grande objetivo do tratamento endodôntico, a limpeza do canal cementário deve favorecer o processo de eliminação de microrganismos presentes nessa região. Do ponto de vista biológico, parece ser importante que a instrumentação e o preparo químico sejam realizados em toda a extensão do canal radicular nos casos de necrose pulpar, visto que as bactérias podem ficar alojadas próximas do forame apical. Portanto, o emprego da patência foraminal e limpeza do canal cementário parecem trazer benefícios ao tratamento endodôntico, embora ainda não haja um consenso na literatura quanto à sua realização definitiva.

REFERÊNCIAS

1. Gutmann JL, Leonard JE. Problem solving in endodontic:working-length determination. *Compend Cont Educ Dent* 1995;16(3):288-304.
2. Simon JH. The Apex: how critical is it?. *Gen Dent* 1994;42(4):330-334.
3. Arias A, Azabal M, Hidalgo JJ, de la Macorra JC. Relationship between postendodontic pain, tooth diagnostic factors and apical patency. *J Endod* 2009;35(2):189-192.
4. Buchanan LS. Management of the curved root canal. *J Calif Dent Assoc* 1989;17(4):18-25.
5. Lopes HP, Siqueira JF Jr. *Endodontia. Biologia e Técnica*. 2ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 2004. 964p.
6. Souza RA. Limpeza de forame- uma análise crítica. *JBE* 2000;1(2):72-8.
7. Ricucci, D, Langeland, K. Apical limit of root canal instrumentation and obturation, part 2. A histological study. *Int Endod J* 1998;31(6):394-409.
8. Nair PNR, Sjogren U, Kahnerg KE, 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(12):580-588.
9. Alves FRF, Siqueira Jr JF, Lopes HP. O terço apical da raiz: características morfológicas, microbiota e considerações terapêuticas. *Rev Bras Odontol* 2005;62(3/4):172-176.
10. Souza RA. *Endodontia Clínica*. São Paulo: Santos, 2003.319p.
11. Cohen, S. & Hargreaves, K. *Caminhos da Polpa*. 9. São Paulo: Mosby, 2009. 1078p.
12. Kuttler Y. Microscopic investigation of root apices. *J Am Dent Assoc* 1955; 50(5):544-552.
13. Stein TJ, Corcoran JF. Anatomy of the root apex and its histologic changes with age. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990;69(2):238-242.
14. Ponce EH, Fernandez JAV. The Cemento-Dentino-Canal Junction, the Apical Foramen, and the Apical Constriction: Evaluation by Optical Microscopy. *Journal of Endodontics* 2003;29(3):214-219.

15. Hassanien EE, Hashem A, Chalfin H. Histomorphometric Study of the Root Apex of Mandibular Premolar Teeth: An Attempt to Correlate Working Length Measured with Electronic and Radiograph Methods to Various Anatomic Positions in the Apical Portion of the Canal. *J Endod* 2008;34(4):408-412.
16. Burch JG, Hulen S. The relationship of the apical foramen to the anatomic apex of the tooth root. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1972;34(2):262-268.
17. Yang H, Tian C, Guojo L, Yang L, Han X, Wang Y. A Cone-beam Computed Tomography Study of the Root Canal Morphology of Mandibular First Premolars and the Location of Root Canal Orifices and Apical Foramina in a Chinese Subpopulation. *Journal of Endodontics* 2013; 39(4):435-438.
18. Martos J, Lubian C, Silveira LFM, Castro LAS, Luque CMF. Morphological analysis of the root apex in human teeth. *Journal of Endodontics* 2010;36(4):664-667.
19. Schilder H. Cleaning and shaping of the root canal. *Dent Clin North Am* 1974;18(2):269-296.
20. Holland R, Sant'Anna Júnior A, Souza V, Dezan Junior E, Otoboni Filho JA, Bernabé PFE, Nery MJ, Murata SS. Influence of apical patency and filling material on healing process of dogs' teeth with vital pulp after root canal therapy. *Braz Dent J* 2005;16(1):9-16.
21. Ricucci D, Siqueira JF. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J Endod* 2010;36:1277-1288.
22. Vera J, Siqueira Jr JF, Ricucci D, Loghin S, Fernandez N, Belina F, Cruz AG. One-versus Two-visit Endodontic Treatment of Teeth with Apical Periodontitis: A Histobacteriologic Study. *JOE* 2012;38(8):1040-1052.
23. Sundqvist G, Johansson E, Sjögren U. Prevalence of black-pigmented *Bacteroides* species in root canal infections. *J Endod* 1989;15(1):13-19.
24. Ricucci D, Loghin S, Siqueira Jr. JF. Exuberant Biofilm Infection in a lateral canal as the cause of short – term endodontic treatment failure: report of a case. *Journal of Endodontics* 2013;39(5):712-718.
25. Siqueira Jr JF, Rôças IN. Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004;97(1):85–94.
26. Subramanian K, Mickel AK. Molecular analysis of persistent periradicular lesions and root ends reveals a diverse microbial profile. *J Endod* 2009;35(7):950-957.

27. Souza, RA. The importance of apical patency and cleaning of the apical foramen on root canal preparation. *Braz Dent J*, Ribeirão Preto 2006;17(1):6-9.
28. Butler NP. Apical debridement – a hypothesis and preliminary report. *J. Br. Endod. Soc* 1970;4(4):52-56.
29. Souza-Filho FJ, Benatti O, Almeida OP. Influence of the enlargement of the apical foramen in periapical repair of contaminated teeth of dog. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1987;64:480-484.
30. Borlina SC, Souza V, Holland R, Murata SS, Gomes-Filho JE, Dezan Junior E, Marion JJC, Anjos Neto D. Influence of apical foramen widening and sealer on the healing of chronic periapical lesions induced in dog's teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010;109(6):932-940.
31. Cailleateau, JG, Mullaney TP. Prevalence of teaching apical patency and various instrumentation and obturation techniques in United States dental Schools. *J Endod* 1997;23(6):394-396.
32. Souza RA. Limpeza do forame e sua relação com dor pós-operatória. *JBE* 2000;1(3):45-48.
33. Ribeiro APD, Malnati PS, Junior EDC. Limpeza do forame e extrusão apical de raspas de dentina em dentes unirradiculares submetidos ao procedimento de patência apical. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr* 2010;10(1):55-60.
34. Souza, AR. Clinical and radiographic evaluation of the relation between the apical limit of root canal filling and success in endodontics. Part 1. *Braz Endod J* 1998;3:43-48.
35. De Deus, QD. *Endodontia*. 5.ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1992. 695p.
36. Marinho ACS, Martinho FC, Zaia AA, Ferraz CCR, Gomes BPF. Influence of the apical enlargement size on the endotoxin level reduction of dental root canals. *J Appl Oral Sci* 2012;20(6):661-666.
37. Lima TFR, Soares AJ, Souza-Filho FJ. Avaliação morfológica do forame apical após o preparo endodôntico com dois sistemas rotatórios. *Rev Assoc Paul Cir Dent* 2012;66(4):272-276.
38. Fornari VJ, Silva-Sousa YT, Vanni JR, Pécora JD, Versiani MA, Sousa-Neto MD. Histological evaluation of the effectiveness of increased apical enlargement for cleaning the apical third of curved canals. *Int Endod J* 2010;43(11):988-994.
39. Souza RA, Sousa YTCS, Figueiredo JAP, Dantas JCP, Colombo S, Pecora JD.

- Relationship between Files that Bind at the Apical Foramen and Foramen Openings in Maxillary Central Incisors - A SEM Study. *Braz Dent J* 2011;22:455-459.
40. Gurgel-Filho ED, Castelo-Branco YN, Maniglia-Ferreira C, Souza-Filho FJ, Coutinho-Filho T. In vivo evaluation of post operative pain in vital pulps after the foramen enlargement. *RFO* 2010;15(2):145-149.
 41. Silva EJNL, Menaged K, Ajuz N, Monteiro MRFP, Filho TSC. Postoperative pain after foraminal enlargement in anterior teeth with necrosis and apical periodontitis: a prospective and randomized clinical trial. *JOE* 2013;39(2):173-176.
 42. Kustarci A, Akpinar KE, Er K. Apical extrusion of intracanal debris and irrigant following use of various instrumentation techniques. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;105:257-262.
 43. Araquam, KR, Britto MLB, Nabeshima CK. Evaluation of apical extrusion of debris during ultrasonic versus rotary instrumentation. *Rev Odonto Ciênc* 2009;24:32-35.
 44. Borges MFA, Miranda CES, Silva SRC, Marchesan M. Influence of Apical Enlargement in Cleaning and Extrusion in Canals with Mild and Moderate Curvatures. *Braz Dent J* 2011;22(3):212-217.
 45. Tinaz AC, Alacam T, Uzun O, Maden M, Kayaoglu G. The effect of disruption of apical constriction on periapical extrusion. *J Endod* 2005;31:553-555.
 46. Beeson TJ, Hartwell GR, Thornton JD, Gunsolley JC. Comparison of debris extruded apically in straight canals: conventional filing versus profile .04 Taper series 29. *J. Endod* 1998; 24(1):18-22.
 47. Coldero LG, McHugh S, MacKenzie D, Saunders WP. Reduction in intracanal bacteria during root canal preparation with and without apical enlargement. *Int Endod J* 2002;35(5):437-446.
 48. Da Silva, JM. Influência do alargamento foraminal na anatomia apical e na qualidade do selamento após obturação [tese]. Piracicaba: Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas; 2011.
 49. Winocur EMD. Avaliação do selamento e transporte apical em dentes humanos com canais preparados com o sistema rotatório Mtwo com e sem ampliação foraminal: estudo in vitro [tese]. Piracicaba: Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas; 2012.
 50. Endo MC, Soares AJ, Souza-Filho FJ. Análise das alterações no forame apical após a instrumentação com patência e ampliação foraminal. *Rev APCD* 2011;65(2):145- 151.

MANUSCRITO II

**INFLUÊNCIA DA INSTRUMENTAÇÃO DO CANAL CEMENTÁRIO NO REPARO
DE LESÕES PERIAPICAIS: ESTUDO EM RATOS**

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar a influência da instrumentação do canal cementário no processo de reparo de lesões periapicais induzidas em dentes de ratos. A primeira fase experimental foi a indução da formação destas lesões nos primeiros molares inferiores de 22 ratos. Posteriormente, foram definidos 02 grupos experimentais: no grupo 1 (12 canais), o preparo foi realizado com a instrumentação do canal cementário e no grupo 2 (10 canais) sem instrumentação do canal cementário e ambos foram obturados com o cimento AH Plus. A eutanásia dos ratos foi realizada após 4 semanas para avaliação histológica e radiográfica. O grupo controle (22 canais) foi o lado oposto dos mesmos ratos e os dentes foram mantidos sem tratamento e expostos ao meio oral. Após a eutanásia, radiografias foram realizadas para mensuração da área das lesões. Para a leitura dos resultados histológicos foram considerados para avaliação histopatológica os seguintes elementos: intensidade do infiltrado inflamatório, reabsorção do cimento apical e neoformação de cimento/selamento biológico. Os dados radiográficos dos dois grupos foram comparados com teste t-Student e os dados histológicos com teste Exato de Fisher. A instrumentação do canal cementário foi significativamente eficaz na formação de novo cimento/selamento biológico (p 0,040) e diminuição da intensidade do infiltrado inflamatório (p 0,038), sugerindo que este procedimento parece criar condições mais favoráveis ao reparo tecidual.

Palavras Chave: Lesão Periapical. Patência foraminal. Instrumentação do Canal Cementário. Reparo.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the influence of instrumentation in the cemental canal to repair induced periapical lesions in teeth of rats. Periapical lesions were induced in first mandibular molar teeth of 22 rats. The teeth were divided into two experimental groups: in group 1 (12 canals), the preparation was performed with instrumentation in the cemental canal, and in group 2 (10 canals) without instrumentation in the cemental canal. Root canals in the experimental groups were filled with AH Plus. The negative control group (22 canals) consisted of the same teeth on the opposite quadrant, and these were untreated. The animals were sacrificed on day 21, and radiographs were performed to measure the area of the lesions. Histological analysis evaluated: intensity of the inflammatory infiltrate, apical cementum resorption and formation of new cementum / biological sealing. The radiographic data of the two groups were compared with Student t-test. Histological comparisons between two groups were made with Fisher Exact Test. Instrumentation cemental canal was significantly effective in the formation of new cementum / biological sealing (p 0,040), and decreased intensity of the inflammatory infiltrate when compared to negative control group (p 0,038). In conclusion, the cement canal instrumentation can be an effective alternative to create more favorable conditions for tissue repair.

Keywords: Periapical lesion. Apical patency. Instrumentation of cemental canal. Repair.

4.0. INTRODUÇÃO

O limite apical de instrumentação do canal radicular continua sendo um tema de muita discussão na Endodontia contemporânea. A possibilidade de agressão aos tecidos apicais e periapicais suporta o princípio de determinação do comprimento de trabalho no limite CDC (cimento-dentina-canal), aquém do vértice radiográfico. Entretanto, apesar de existirem muitas publicações na literatura discorrendo sobre o assunto ^{1,2}, ainda não existe uma definição quanto ao limite ideal, particularmente nos casos de dentes portadores de necrose pulpar associada à periapicopatias crônicas.

Sabe-se que micro-organismos anaeróbios e anaeróbios facultativos instalam-se nos canais radiculares favorecidos pelas condições da polpa necrótica, onde não há suprimento de sangue e oxigênio ³. Sendo assim, durante a etapa de preparo do canal a adequada limpeza e modelagem dos canais devem ser realizadas para que se consiga uma redução significativa dos micro-organismos. Devido a isso, além da limpeza do canal dentinário, tem sido proposta a realização da limpeza do canal cementário nos casos de necrose pulpar, particularmente naqueles que apresentam lesão periapical. No entanto, a incorporação desse procedimento na prática clínica tem sido alvo de polêmica.

Definida por Buchanan⁴ como a passagem passiva e delicada de um instrumento fino pela constrição apical, para alguns autores^{5,6,7,8} a patência apical cumpriria o objetivo de promover a limpeza e desinfecção do canal cementário. Entretanto, esse não é o pensamento de Souza ⁹. Segundo esse autor, não parece provável que nessas condições a passagem de um instrumento fino possa, de fato, promover limpeza. Seria necessária uma ação mecânica mais efetiva.

Por outro lado, uma vez que patência apical pode significar um procedimento feito em qualquer ponto do terço apical, Souza⁹ entende que a expressão patência foraminal parece definir melhor o procedimento realizado no canal cementário, entre o forame apical menor, tido como o ponto de constrição do canal, e o forame apical maior, que representa o término do canal, onde o canal cementário apresenta o seu maior diâmetro.

A patência foraminal é estabelecida logo após a determinação do comprimento de trabalho (CT) e mantida durante a instrumentação do canal radicular, com o propósito de se manter o

acesso ao forame (objetivo mecânico). Para tanto, o instrumento de patência foraminal a ser escolhido deve ter um diâmetro menor que o do forame apical menor.

A razão pela qual a lima de patência foraminal deve ter um diâmetro inferior que o do forame apical menor é diminuir a possibilidade de que esta atue como o êmbolo de uma seringa a cada vez que for reintroduzido no canal cementário para mante-lo acessível. Assim, diminui a possibilidade de extrusão de material para os tecidos periapicais.

Uma vez que esse instrumento deverá apresentar um diâmetro menor do que o do forame apical, talvez se possa imaginar que a sua ação mecânica, para efeito de limpeza do canal cementário, não será efetiva. Para que se cumpra então o objetivo biológico ⁹, deve-se selecionar um instrumento que se ajuste ao forame e da melhor forma possível toque as paredes do canal cementário ^{9,10}.

Pelo exposto, existem dois objetivos primordiais correlacionados com a instrumentação do canal cementário. O primeiro, a patência foraminal, cujo objetivo é o de se manter sempre acessível o forame apical. O segundo, a limpeza do canal cementário, com o objetivo de melhor exercer controle de infecção. A execução do primeiro é fundamental para que se consiga o segundo.

Além disso, do ponto de vista biológico, sugere-se, que a instrumentação do forame apical pode influenciar positivamente no processo de reparo em casos de periapicopatias crônicas, porque, através da ação mecânica dos instrumentos sobre as paredes do canal cementário ¹¹, tornam-se maiores as chances de limpeza mais efetiva. Ambos objetivos (mecânico e biológico) auxiliam na diminuição do número de bactérias no canal cementário e no melhor controle de infecção, resultado este tão almejado para o sucesso da Endodontia ^{9,12}.

Relatos da literatura têm demonstrado que mesmo seguindo um protocolo exequível de modelagem e desinfecção durante o tratamento endodôntico, as raspas de dentina provenientes do procedimento são inadvertidamente compactadas na porção apical do canal formando *plugs* dentinários ¹³. Estes atuam como uma barreira mecânica que pode interferir no contato das soluções irrigadoras e medicação intracanal com o canal cementário e ainda promover alterações no comprimento de trabalho. Esses fatores parecem ratificar a

importância da realização da patência e instrumentação foraminal durante o preparo químico mecânico dos canais radiculares.

A grande variabilidade anatômica do canal cementário, principalmente no que diz respeito ao seu diâmetro/curvatura/comprimento/saída foraminal ² e sua relação com os instrumentos endodônticos vem sendo estudada e apresentada em diversos trabalhos de microscopia eletrônica de varredura, dentre eles o de Souza *et al.*, ¹⁴. Esses estudos apontam para a necessidade de um olhar mais atento para esse segmento dos canais, sugerindo a sua incorporação na instrumentação para controle mais efetivo da infecção, principalmente nos casos de dentes portadores de periapicopatias crônicas, pois estes alojam inúmeros microrganismos nas suas anfractuosidades. A permanência dos mesmos na área pode levar à manutenção do processo infeccioso e impedir o reparo periapical.

Por estas razões, discussões sobre as manobras de patência foraminal e limpeza do canal cementário em casos de dentes com necrose pulpar vem sendo alvo de tantos estudos e divergências de opiniões, que acabam instigando a comunidade científica à realização de pesquisas.

Diante desse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a influência da instrumentação do canal cementário no reparo de lesões periapicais induzidas em dentes de ratos.

5.0. METODOLOGIA

Os procedimentos experimentais do presente estudo foram realizados no Laboratório de Farmacologia Aplicada I, localizado no Bloco C, Prédio 12, da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), bem como no Laboratório de Endodontia da Faculdade de Odontologia, Prédio 06 da PUCRS. Tais condutas obedeceram aos princípios éticos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA. O projeto foi encaminhado e aprovado (protocolo n. 0040/13) pela Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia (CCEFO) da PUCRS e pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da PUCRS (protocolo n. 13/00370).

5.1. Delimitação e Cálculo da Amostra

O trabalho foi desenvolvido em ratos machos Wistar, com dois meses de idade e peso aproximado entre 240 e 300 gramas (Figura 1), provenientes do Vivário da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS, Porto Alegre, RS).

Figura 1: Amostra utilizada (Ratos Wistar com 2 meses de idade).



Fonte: Paula Maciel Brandão

Inicialmente, o tamanho da amostra foi de 14 ratos em cada grupo experimental. Porém durante os procedimentos houve perdas de amostras, sendo finalizada a pesquisa com 12 ratos no grupo experimental com instrumentação do canal cementário e 10 ratos no grupo experimental sem instrumentação do canal cementário. Foram utilizados 22 canais para o grupo controle^{15, 16}.

Os 22 ratos foram mantidos em condições ambientais no Biotério do Laboratório de Farmacologia Aplicada I da PUCRS e alimentados com ração granulada comercial Labina® (Agribrands-Purina, Paulínia, SP, Brasil) e água *add libitum*.

Para a realização dos procedimentos experimentais todo material e instrumental clínico utilizado foi devidamente autoclavado (Autoclave Modelo 2340 EKA, Tuttner, São Paulo,

SP). Em todas as sessões do tratamento os animais foram anestesiados intraperitonealmente (Figura 2) com ketamina, na dosagem de 0.8 ml/100g e Xilazina na dosagem de 0.2 ml/100g (Figura 03). A suplementação anestésica foi realizada sempre que necessária, endovenosamente, porém, com $\frac{1}{4}$ da dose inicial.

Figura 2: Anestesia Intraperitoneal no Rato.



Fonte: Paula Maciel Brandão

Figura 3: Medicamentos utilizados na anestesia.



Fonte: Paula Maciel Brandão

A partir desse momento o trabalho foi dividido em duas fases: indução das lesões periapicais e tratamento endodôntico propriamente dito.

Pela maior facilidade de visualização, para realizar o acesso nos molares inferiores com intuito de induzir a formação de lesão periapical, foram utilizados dispositivos para abertura bucal (Figuras 4 e 5) preconizados por Scarparo *et al.*,¹⁵. Na fase do preparo químico-mecânico e obturação, fase que necessitou de maior contenção do rato, foi utilizada a mesa operatória especial (Figuras 6 e 7).

Figura 4: Dispositivo para abertura bucal.



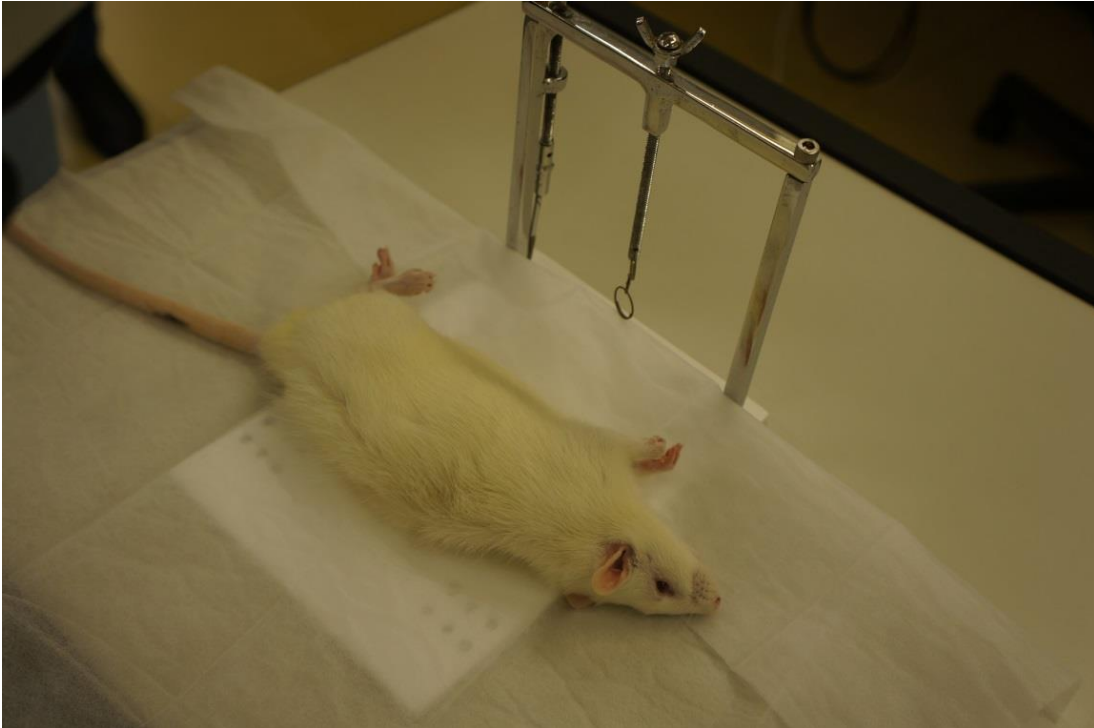
Fonte: Paula Maciel Brandão

Figura 5: Inserção do dispositivo para abertura bucal no rato.



Fonte: Paula Maciel Brandão

Figura 6: Mesa operatória especial.



Fonte: Paula Maciel Brandão

Figura 7: Animal posicionado na mesa operatória especial.



Fonte: Paula Maciel Brandão

5.2. Indução das Lesões Periapicais

A primeira fase foi a indução de formação das lesões periapicais nos dentes que fizeram parte do experimento. A exposição pulpar foi realizada na fossa mesial do primeiro molar inferior (Figura 8) utilizando-se broca esférica # 1011 HL (KG Sorensen, Cotia, SP) em alta rotação na profundidade de cerca de 1 mm ¹⁷. Uma pinça serrilhada foi utilizada para afastar os tecidos auxiliando na visualização. Com uma lima endodôntica K # 10 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) remanescentes dos tecidos pulparem foram removidos, a fim de não provocar sintomatologia dolorosa no período de indução da lesão periapical (Figura 9). Os dentes foram deixados abertos com o objetivo de se induzir a contaminação bacteriana e consequente desenvolvimento de lesão periapical inflamatória. O tempo requerido para a formação das lesões periapicais foi de 3 semanas após a pulpectomia, seguindo os protocolos já reportados na literatura ^{18,19}.

Figura 8: Acesso à fossa mesial do 1º molar inferior.



Fonte: Paula Maciel Brandão

Figura 9: Exposição Pulpar.



Fonte: Paula Maciel Brandão

5.3. Formação dos Grupos Experimentais

Foram definidos 02 grupos experimentais. No grupo 1 (12 canais), o preparo foi realizado com instrumentação do canal cementário e no grupo 2 (10 canais) sem instrumentação do canal cementário, definindo-se, assim, 2 variáveis. Ambos foram obturados com cimento à base de resina epóxica com nome comercial AH Plus (Dentsply- Indústria e Comércio Ltda., Petrópolis, RJ).

O grupo controle foi o 1º molar inferior do lado aposto ao que foi instrumentado do mesmo rato. Neste grupo (22 canais), os canais foram expostos ao meio bucal para formação da lesão, mas não foram tratados. Não houve confirmação do desenvolvimento da lesão periapical devido à dificuldade em manipular o rato, sendo prevista a sua formação pela observação da sua ocorrência nos grupos experimentais como também em função de trabalhos anteriores já publicados^{18,19}.

5.4. Tratamento Endodôntico

Após o período de indução de lesões periapicais, os animais foram anestesiados e com o microscópio cirúrgico (Alliance Microscopia ®, São Paulo, Brasil), (Figura 10) com ampliação de 16x e 25x, o canal da raiz mesial dos primeiros molares inferiores foi preparado.

Figura 10: Microscópio Alliance.



Fonte: Paula Maciel Brandão

Primeiramente foi determinado o Comprimento de Trabalho (CT) pelo localizador foraminal eletrônico SybronEndo (Figura 11). Quando a lima atingia o ápice radicular, o localizador emitia um bipe contínuo. A lima era removida e a medida era diminuída em 1 mm, determinando o CT.

A validação do uso do localizador foi realizada em estudo piloto com 5 ratos, testando a confiabilidade do aparelho. Neste estudo piloto foi introduzida uma lima K #10 e quando esta atingia a constrição apical o aparelho emitia um bipe contínuo. Foi tirada radiografia periapical, confirmando a confiabilidade do aparelho em 1 mm aquém do ápice radiográfico em todas as amostras (Figuras 12 e 13).

Figura 11: Localizador Apical SybronEndo.



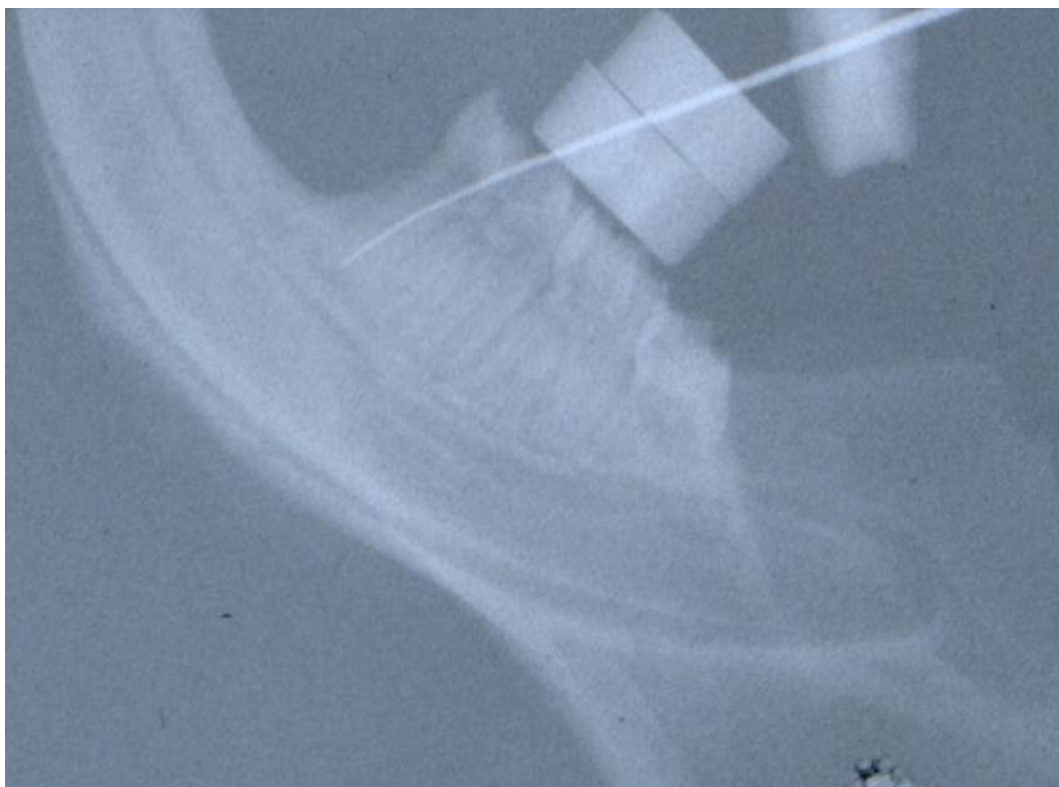
Fonte: Paula Maciel Brandão

Figura 12: Tomada radiográfica.



Fonte: Paula Maciel Brandão

Figura 13: Radiografia Periapical CT.



Fonte: Paula Maciel Brandão

A instrumentação dos canais radiculares foi realizada pela técnica seriada. A cada troca de instrumento foi realizada a irrigação com 2 mL da solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) 2,5% acompanhada da aspiração, com irrigação final com 5 mL de solução salina estéril, sempre com agulhas Nav iTip (Ultradent, South Jordan, UT, EUA). No total foram utilizadas 2 seringas plásticas de 5 ml de NaOCl e 1 seringa plástica de 5ml de solução salina estéril.

Nos dois grupos (1 e 2), a instrumentação foi realizada até o limite cimento-dentina-canal (CDC), com limas #10, #15, #20, #25 e #30^{20,21}.

No grupo 1 (com instrumentação do canal cementário), antes do preparo do canal, o canal cementário foi penetrado com uma lima K #15 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) para obtenção do forame apical principal. Em seguida, o preparo do canal foi realizado a 1 mm aquém da medida registrada pelo localizador foraminal eletrônico, com limas #10, #15, #20, #25 e #30^{20,21}. Nesse grupo, entretanto, o canal cementário foi instrumentado com limas K #10, #15, #20, #25¹¹, no comprimento determinado pelo localizador foraminal.

No grupo 2 (sem instrumentação do canal cementário) o preparo do canal foi feito a 1 mm aquém da medida registrada pelo localizador foraminal eletrônico. A instrumentação foi realizada com limas K #10, #15, #20, #25, #30^{20,21}.

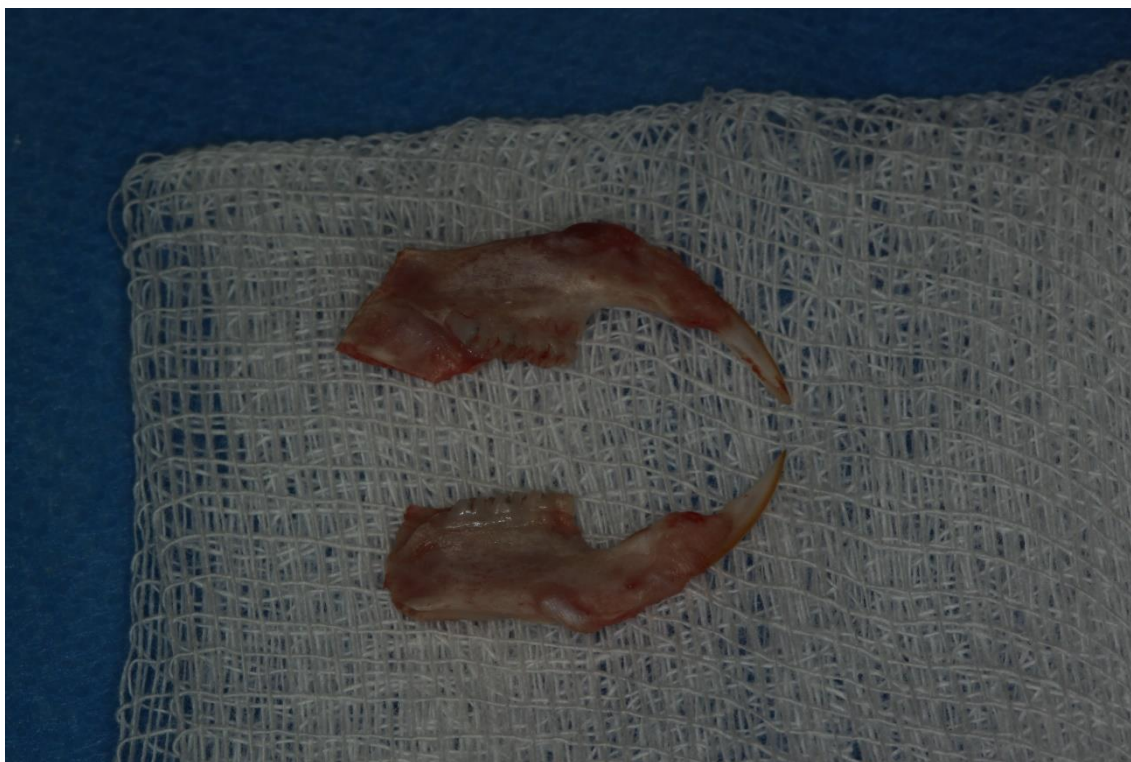
Após a irrigação final com solução salina estéril, os canais foram secados com cones de papel absorvente (Dentsply - Indústria e Comércio Ltda., Petrópolis, RJ) estéreis e obturados a 1 mm aquém do ápice pela técnica do cone único com cone de guta percha (Dentsply Indústria e Comércio Ltda., Petrópolis, RJ) e cimento à base de resina epóxica (AH Plus; De Trey, Dentsply, Konztanz, Alemanha).

Concluídas as obturações, o cone de guta percha foi seccionado ao nível da embocadura dos canais radiculares com uma sonda clínica (Golgran, São Paulo- SP) aquecida, e o remanescente foi condensado verticalmente para obtenção de obturações bem compactas. As câmaras pulpares foram limpas, os excessos dos materiais obturadores foram removidos da câmara pulpar com auxílio de bolinha de algodão umedecida em álcool e as cavidades de acesso seladas com cimento de ionômero de vidro (Vidrion R, S. S. White, Rio de Janeiro, RJ).

5.5. Eutanásia dos Ratos, Processamento das Peças Obtidas e Obtenção das Radiografias

Após 04 semanas do preparo químico-mecânico e obturação dos canais, foi realizada a eutanásia por inalação de isoflurano. As mandíbulas foram dissecadas para a avaliação radiográfica e histológica (Figura 14).

Figura 14: Mandíbulas dissecadas.



Fonte: Paula Maciel Brandão

Foram tiradas radiografias periapicais dos primeiros molares inferiores direito e esquerdo, ou seja, dos dentes instrumentados e dos utilizados como controles. As radiografias periapicais seguiram os princípios da Técnica do Paralelismo, com o aparelho de raios X Spectro II (Dabi Atlante, Ribeirão Preto – SP), com 60 kVp, tempo de exposição de 0,2 segundo, e películas radiográficas periapicais infantis (Kodac – Insight). A revelação foi realizada em câmara escura portátil respectivamente nos tempos de 1 e 5 minutos no revelador e fixador (Eastman Kodak Company, Rochester – N.Y.).

Logo após, as amostras foram imediatamente introduzidas em frascos individuais devidamente identificados contendo solução de paraformoldeído 4%, tamponado (pH 7,0) (Essencial Farma, Itapetininga, SP), por 24 horas. Decorrido esse período, as peças foram lavadas em água corrente para remoção total da solução fixadora (Vier-Pelisser, 2005).

As hemimandíbulas foram cortadas em blocos de aproximadamente 8x10x6 mm (contendo o primeiro molar inferior e desmineralizadas em solução de EDTA 7% por 45 dias, com trocas da solução em dias alternados. Após a desmineralização, as amostras foram seccionadas no

sentido méso-distal. O processo de descalcificação foi monitorado por meio da introdução periódica de uma agulha fina nos espécimes até quando não foi encontrado mais resistência à perfuração. O processo de descalcificação foi concluído quando as peças apresentaram consistência borrachóide, sem resistência ao corte pela navalha.

Os blocos foram desidratados em etanol 30%, 50%, 70%, 95% e 100% (Nuclear, Diadema, SP, Brasil) e banhados em xilol (Merck S.A, São Paulo - SP). A orientação de inclusão dos espécimes em parafina (Merck S.A, São Paulo - SP) possibilitou a obtenção de cortes semi seriados no sentido longitudinal com orientação méso-distal. Os mesmos compreenderam 6 micrometros de espessura e foram executados valendo-se de um micrótomo digital Leica RM2265 (Leica Microsystems, Nussloch, Alemanha). Os cortes foram aderidos em lâminas de vidro comuns para microscopia (Corning®, Corning, NY, EUA) já devidamente etiquetadas. Os espécimes foram então, corados com Hematoxilina-eosina (HE), protegidos com lamínulas de vidro para lâminas para posterior análise em microscopia óptica.

5.6. Análise Histológica

Foi procedida a análise histopatológica, em microscópio óptico, por observador sênior calibrado e que desconhecia o grupo ao qual cada lâmina pertencia. Foram considerados para avaliação histopatológica os seguintes elementos:

- 5.6.1. Intensidade da resposta inflamatória;
- 5.6.2. Reabsorção do cimento apical;
- 5.6.3. Neoformação de cimento/selamento biológico.

Os escores 1, 2, 3 e 4 foram atribuídos para cada parâmetro analisado, da seguinte forma, adaptada de Gomes *et al.*,²² e Holland *et al.*,²³.

5.6.1. Intensidade do infiltrado inflamatório:

- 1. Ausência de reação inflamatória;
- 2. Presença de monomorfonucleares esparsos;
- 3. Presença de infiltrado monomorfonuclear e/ou presença de neutrófilos e eosinófilos esparsos;
- 4. Presença de infiltrado polimorfonuclear neutrófilo e/ou eosinófilo, com presença de áreas de formação de abscesso.

5.6.2. Reabsorção do cimento apical

1. Ausente
2. Reabsorção inicial localizada em um sítio específico do ápice radicular;
3. Reabsorção ocupando mais de um sítio do ápice radicular;
4. Reabsorção invadindo a dentina.

5.6.3. Neoformação de cimento/selamento biológico:

1. Selamento biológico completo;
2. Selamento biológico parcial;
3. Ausência de cimento neoformado.

5.7. Análise Radiográfica

As radiografias periapicais do lado direito (experimental) e esquerdo (controle) foram realizadas após a eutanásia dos ratos. As mesmas foram acondicionadas em cartelas plásticas identificadas e armazenadas após a digitalização por meio do Scanner de mesa HP, Scanjet, g4050 (Palo Alto, CA, EUA).

Todas as imagens digitais foram identificadas individualmente de acordo com o grupo experimental pertencente e armazenadas no formato JPEG.

As imagens foram importadas para o Programa ImageJ v. 3.0 (Versão da imagem Tools 3.0; University of Texas Health Science Center at San Antonio, San Antonio, TX, EUA) e posteriormente analisadas. Em cada uma das imagens, os limites radiográficos das lesões periapicais foram demarcados, através do *mouse*, considerando toda sua extensão (Figura 15). No programa ImageJ, a ferramenta *calibrate spatial measures* foi utilizada para demarcar a área em mm², sendo colocado como base a largura do tamanho do filme utilizado em mm. Após resultado da área em mm, este foi transferido para uma tabela Excel para posterior teste estatístico¹⁵.

Para a análise radiográfica, a calibragem intra-examinador foi realizada pelo Coeficiente de Correlação Intraclasse (ICC), considerando-se duas (02) avaliações de 10 amostras com intervalo de duas (02) semanas, com valor de 0,9582.

Figura 15: Delimitação da lesão periapical



Fonte: Paula Maciel Brandão

5.8. Análise Estatística

Os resultados foram avaliados por examinador experiente e calibrado para tal, seguindo um delineamento cego.

Os dados foram analisados no software R (versão 3.1.0). Foi feita uma análise descritiva (frequência absoluta/relativa, média e desvio padrão) para identificar as características gerais e específicas da amostra estudada. A normalidade da distribuição dos dados foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk.

A análise estatística dos resultados radiográficos e histológicos foi efetuada para se detectar a existência ou não de diferenças significantes entre os tipos de tratamentos executados. Foi utilizado o teste t-Student na análise dos resultados radiográficos e o teste Exato de Fisher na análise dos resultados histológicos.

O nível de significância adotado para este estudo foi de 5%. Os resultados obtidos estão apresentados de forma descritiva em tabelas e gráficos comparativos formulados em MS Word.

6.0. RESULTADOS

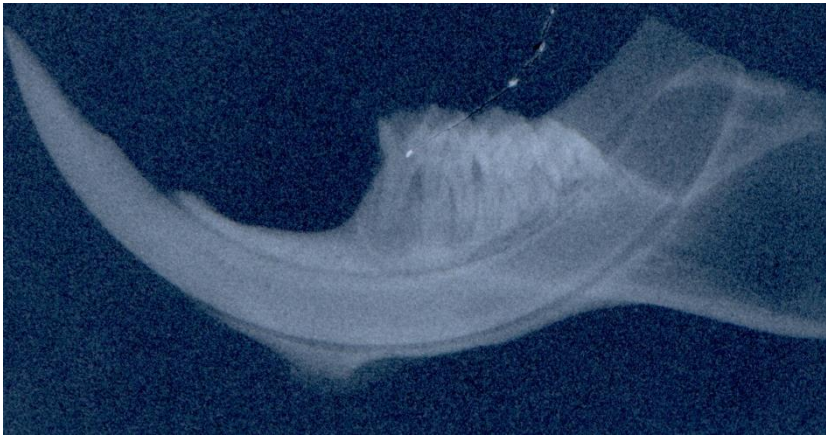
Foram apresentados os resultados radiográficos e histológicos dos grupos 1 e 2.

6.1. GRUPO 1 - Com instrumentação do canal cementário

6.1.1 Resultado Radiográfico do Grupo 1

Radiograficamente, o tamanho da lesão no lado controle foi maior se comparada com o lado instrumentado (Figuras 16 e 17). Todas as medidas do lado em que os canais foram instrumentados foram menores quando comparadas com as do grupo controle em que nenhum tratamento foi realizado, como está demonstrado na Tabela 1.

Figura 16: Radiografia do lado controle. Espécime do grupo 1.



Fonte: Paula Maciel Brandão

Figura 17: Radiografia do lado instrumentado. Espécime do grupo 1.



Fonte: Paula Maciel Brandão

Tabela 1: Tamanho da área da lesão em mm do lado controle e do grupo 1.

N	CONTROLE	GRUPO 1
1	1.246	0.413
2	2.013	1.863
3	1.067	0.508
4	1.862	1.113
5	1.015	0.476
6	1.093	0.757
7	2.150	0.852
8	1.378	0.606
9	0.881	0.118
10	1.751	1.007
11	1.110	0.680
12	1.864	1.230

6.1.2. Resultado Histológico do Grupo 1

Todos os espécimes exibiram presença de infiltrado inflamatório. Em 9 espécimes, foi observada a presença de monomorfonucleares esparsos. Em 2 espécimes, presença de infiltrado mononuclear além da presença de neutrófilos e eosinófilos esparsos e em 1 espécime, presença de infiltrado polimorfonuclear neutrófilo e/ou eosinófilo, com presença de áreas de formação de abscesso.

Quanto à reabsorção do cimento pré-existente na região apical, foi notada ausência de reabsorção em 6 casos. Em 5 casos foram observadas áreas de reabsorção inicial localizada em um sítio específico do ápice radicular, em apenas 1 espécime reabsorção ocupando mais de um sítio do ápice radicular. Em nenhum espécime foi observada área de reabsorção invadindo a dentina.

Todos os espécimes exibiram presença de cimento neoformado/selamento biológico, seja parcial ou total. O Selamento biológico completo do canal principal foi observado em 5 casos e parcial em 7. Não houve ausência de selamento em nenhum espécime.

Os escores atribuídos aos diferentes eventos histomorfológicos observados em todos os espécimes deste grupo experimental estão inseridos na Tabela 2.

Tabela 2: Grupo 1- Escores atribuídos aos 3 itens analisados em todos os espécimes do grupo.

N	Intensidade do infiltrado inflamatório	Reabsorção do cimento apical	Neoformação de cimento / Selamento biológico
1	2	2	2
2	4	2	2
3	2	1	1
4	3	3	2
5	2	1	1
6	2	2	2
7	2	1	2
8	2	1	2
9	2	1	1
10	3	2	2
11	2	1	1
12	2	2	1

Figura 18 – Dente com instrumentação do canal cementário – HE 40X. Observa-se material obturador no interior do canal. Presença de cementócitos e novo cimento invadindo o espaço do canal radicular.

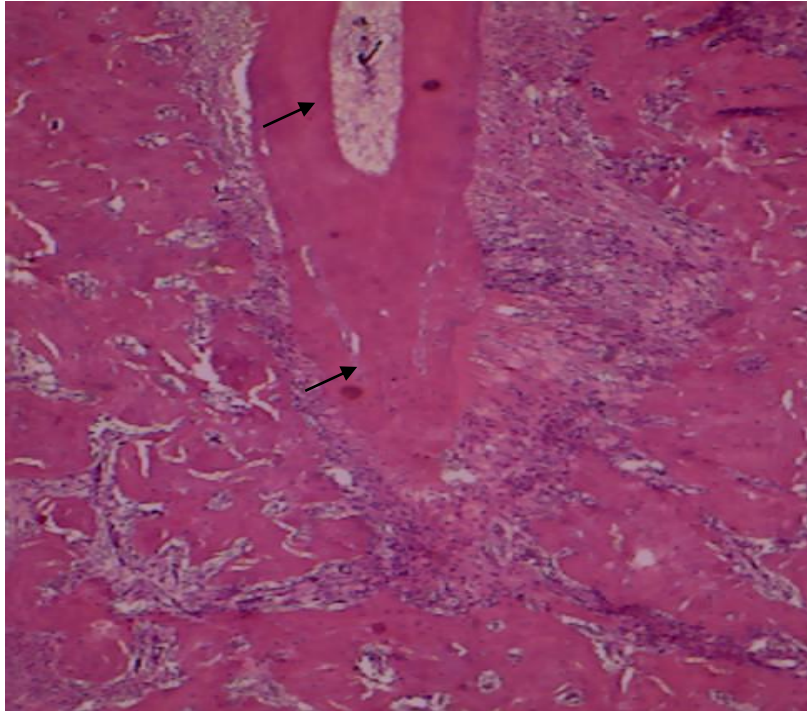


Figura 19 – Maior aumento da figura anterior detalhando o selamento biológico através do cimento neoformado – HE 100X.

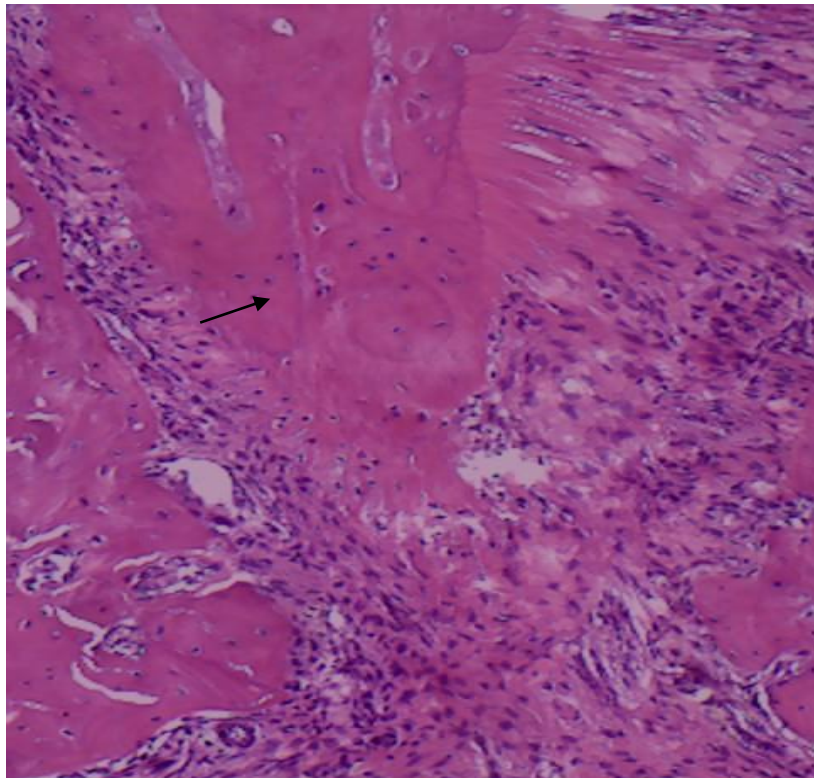


Figura 20 - Dente com instrumentação do canal cementário – HE 40X. Observe-se presença de pequena lasca de cimento extruída. Este evento não impediu o selamento biológico do canal radicular.

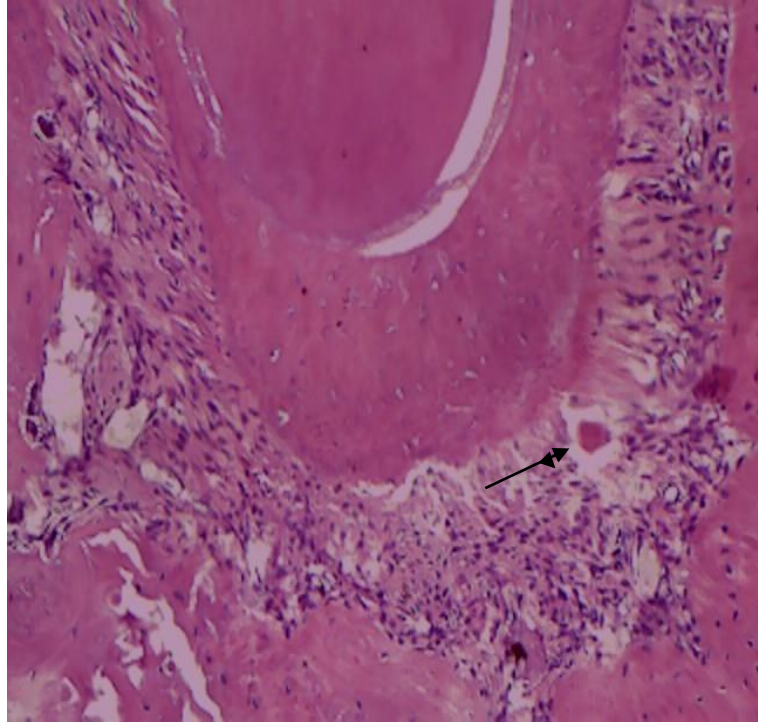
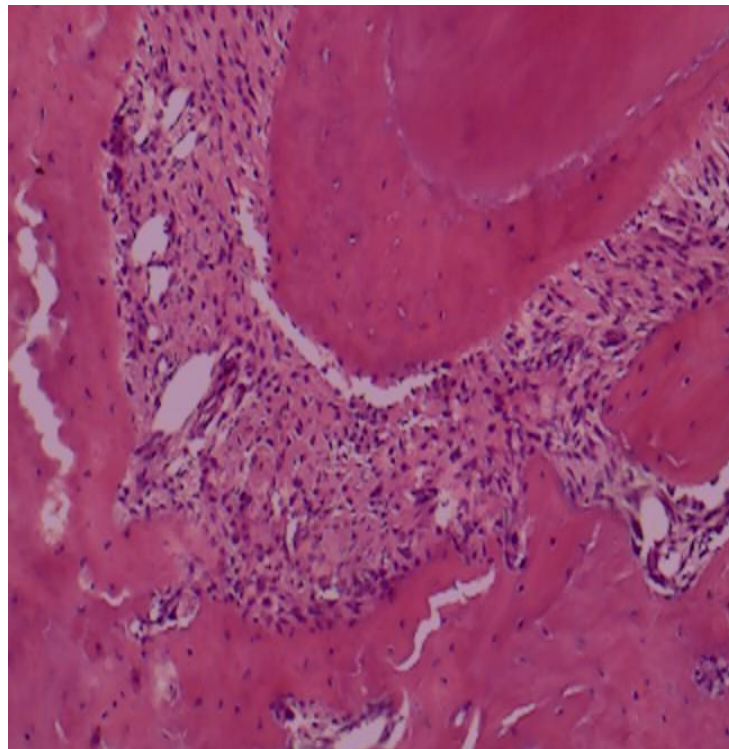


Figura 21 - Maior aumento da figura anterior detalhando selamento biológico do canal principal por cimento neoformado – HE 100X.

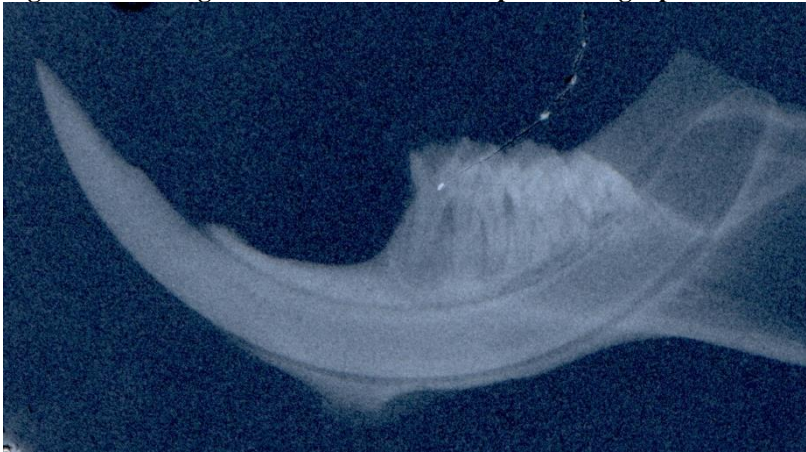


6.2. GRUPO 2 - Sem instrumentação do canal cementário

6.2.1 Resultado Radiográfico do Grupo 2

Radiograficamente, o tamanho da lesão no lado controle foi maior se comparada com lado instrumentado (Figuras 22 e 23). Todas as medidas do lado em que os canais foram instrumentados foram menores quando comparadas com as do grupo controle em que nenhum tratamento foi realizado, demonstrado na Tabela 3.

Figura 22: Radiografia do lado controle. Espécime do grupo 2



Fonte: Paula Maciel Brandão

Figura 23: Radiografia do lado instrumentado. Espécime do grupo 2



Fonte: Paula Maciel Brandão

Tabela 3: Tamanho da área da lesão em mm do lado controle e do grupo 2.

N	CONTROLE	GRUPO 2
1	1.898	1.723
2	1.678	0.853
3	1.423	1.291
4	1.832	1.675
5	1.959	1.656
6	1.981	1.156
7	1.736	1.419
8	1.674	1.195
9	1.396	1.352
10	1.418	1.417

Todos os espécimes exibiram presença de infiltrado inflamatório. Em 2 espécimes, foi observada a presença de mononucleares esparsos. Em 6 espécimes, presença de infiltrado mononuclear além da presença de neutrófilos e eosinófilos esparsos e em 2 espécimes, presença de infiltrado polimorfonuclear neutrófilo e/ou eosinófilo, com presença de áreas de formação de abscesso.

Quanto à reabsorção do cimento pré-existente na região apical, foi notada ausência de reabsorção em apenas 1 caso. Em 4 casos foram observadas áreas de reabsorção inicial localizada em um sítio específico do ápice radicular e em 3 espécimes reabsorção ocupando

mais de um sítio do ápice radicular. Em 2 espécimes foi observada área de reabsorção invadindo a dentina.

Nenhum espécime exibiu presença de cimento neoformado/selamento biológico completo. O selamento biológico parcial foi observado em 9 espécimes e ausência de selamento em apenas 1 espécime.

Os escores atribuídos aos diferentes eventos histomorfológicos observados em todos os espécimes deste grupo experimental estão inseridos na Tabela 4.

Tabela 4: Grupo 2 - Escores atribuídos aos 3 itens analisados em todos os espécimes do grupo.

N	Intensidade do infiltrado inflamatório	Reabsorção do cimento apical	Neoformação de cimento / Selamento biológico
1	2	1	2
2	3	3	2
3	3	2	2
4	3	2	2
5	4	3	2
6	3	4	2
7	3	2	2
8	2	2	2
9	3	3	2
10	4	4	3

Figura 24 - Dente sem instrumentação do canal cementário – HE 40X. O ápice encontra-se aberto pela reabsorção cementária.

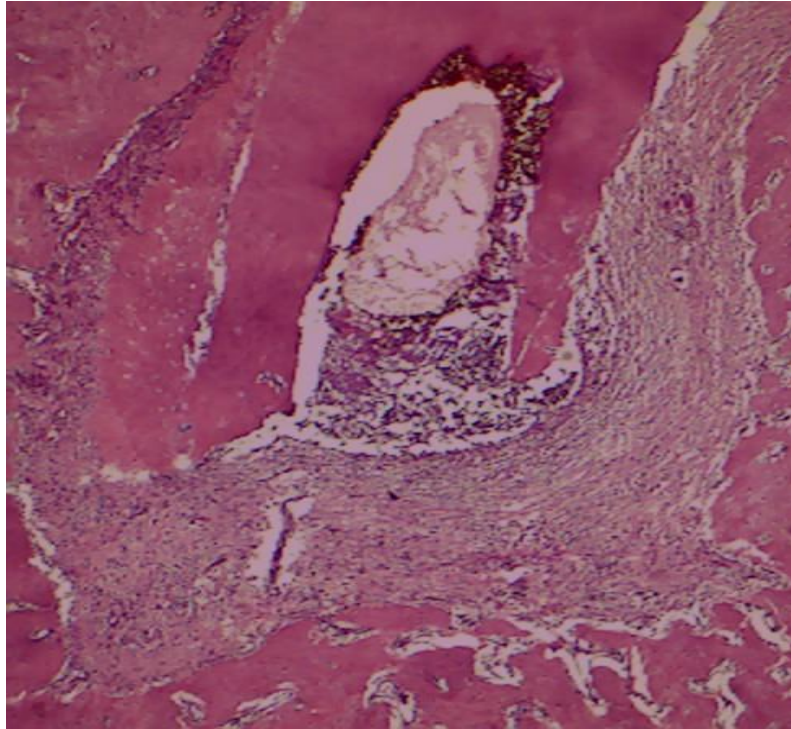


Figura 25 - Maior aumento da figura anterior detalhando presença de infiltrado de neutrófilos com início de condensação fibrosa, sem conseguir conter o avanço das células inflamatórias – HE 100X.

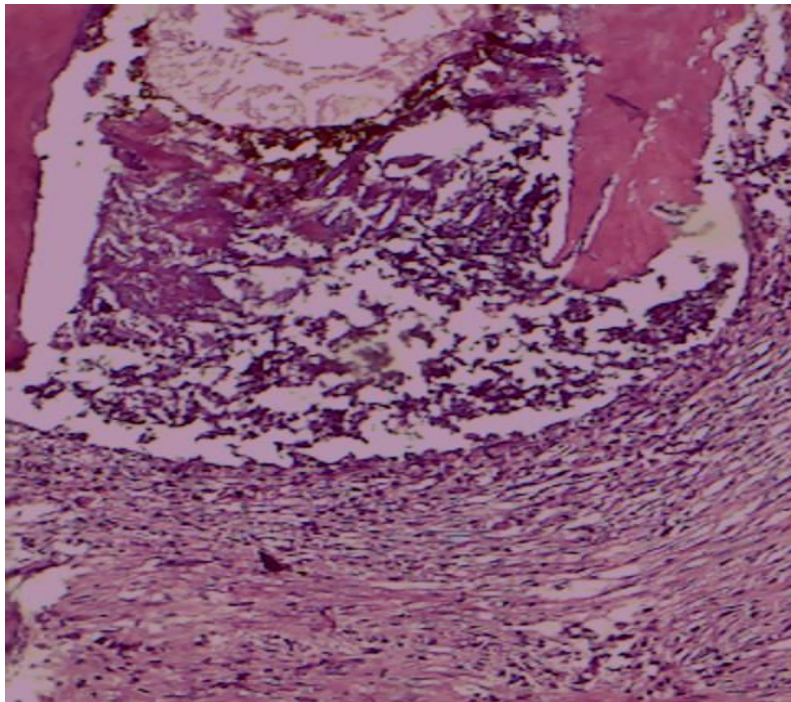


Figura 26- Dente sem instrumentação do canal cementário- HE 40X. Observe-se presença de infiltrado de neutrófilos com abscesso formado a partir de canal lateral.

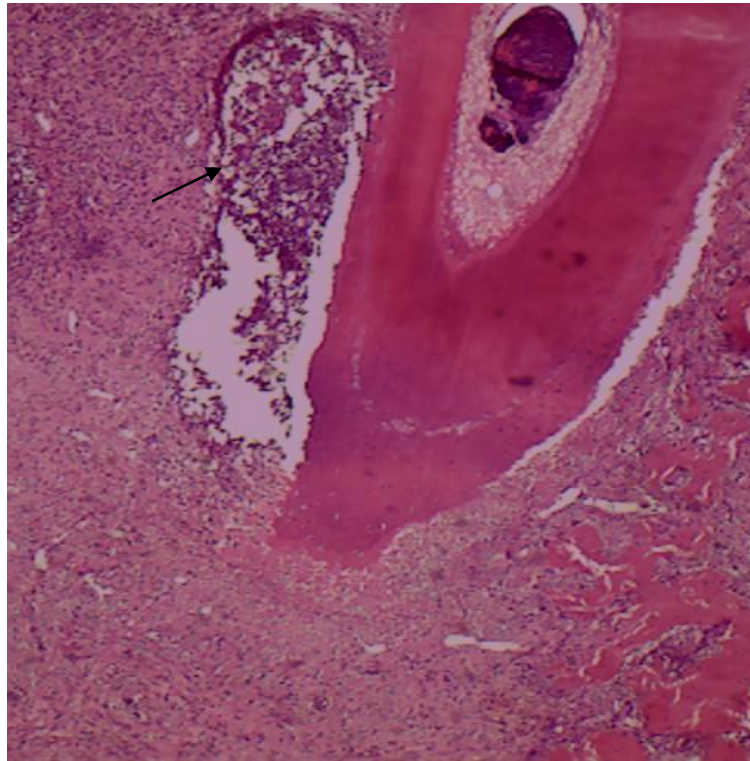


Figura 27 - Maior aumento da figura anterior detalhando presença de infiltrado (abscesso)- HE 100X.

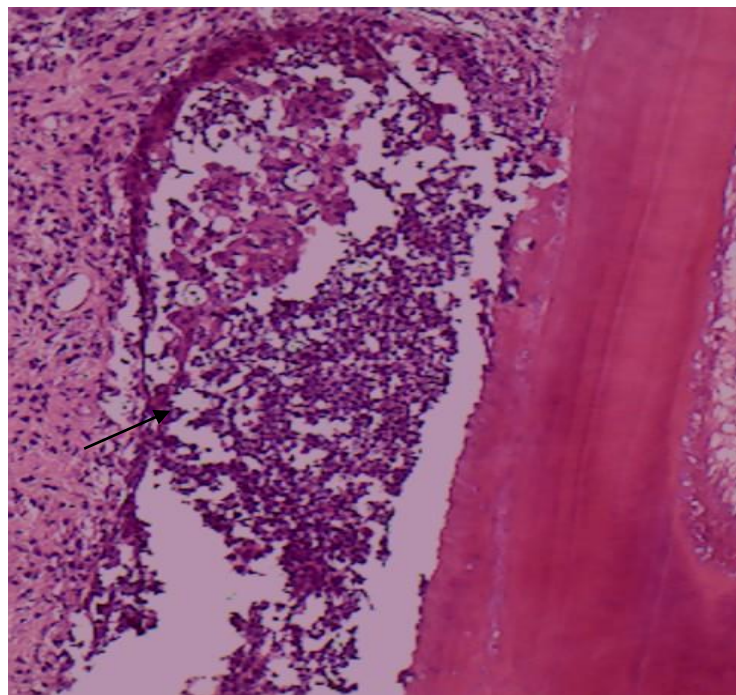


Figura 28 – Dente sem instrumentação do canal cementário – HE 40X. Presença de infiltrado inflamatório com reabsorção envolvendo a dentina.

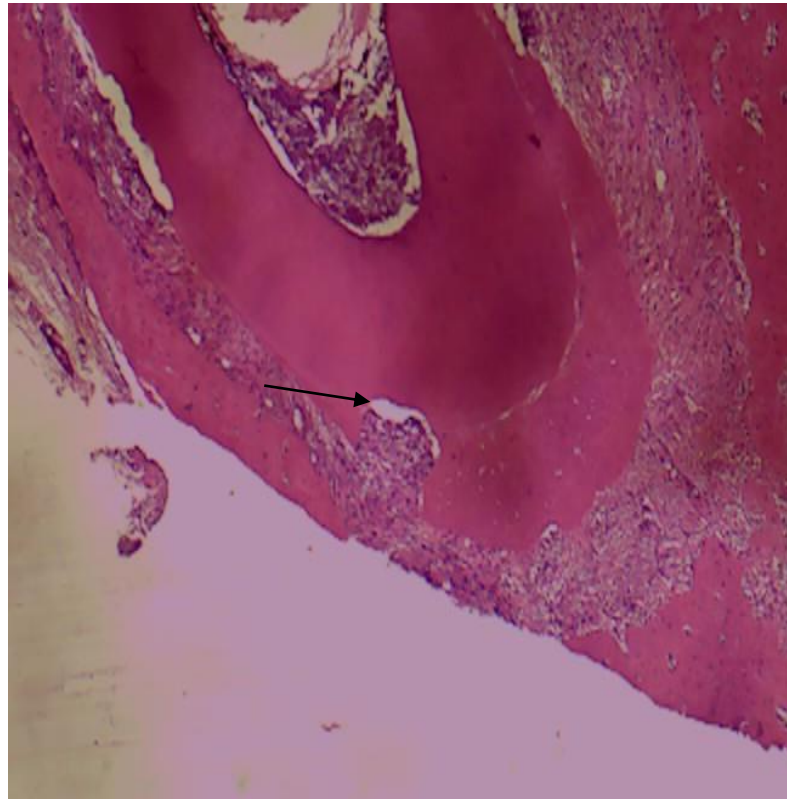


Figura 29 - Maior aumento da figura anterior detalhando presença de infiltrado de macrófagos e gigantócitos, com cementoclastos invadindo a dentina – HE 400X.

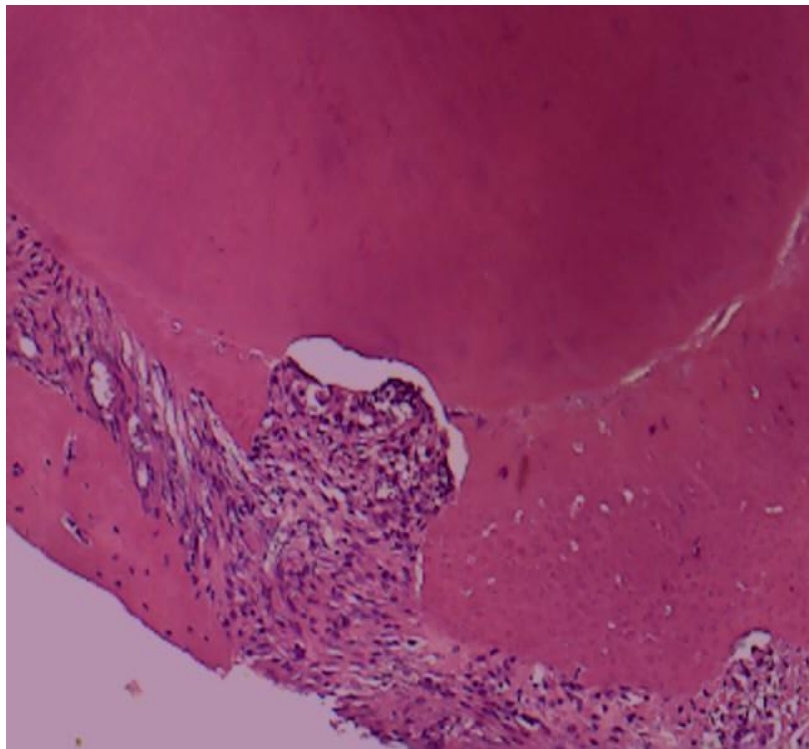
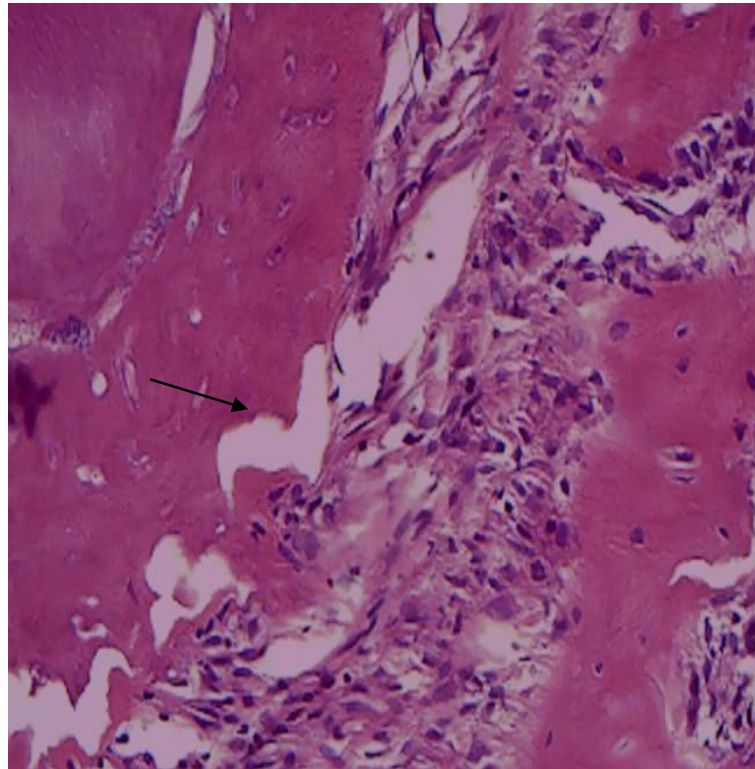


Figura 30 – Dente sem instrumentação do canal cementário – HE 400X. Observa-se presença de cementoclasto iniciando reabsorção cementária, com lacunas de Howship.



6.3. Análise Estatística

Para análise radiográfica, foi realizado o teste de Shapiro-Wilk com intuito de avaliar a normalidade da distribuição. Em seguida, o teste t-Student foi utilizado.

A média do tamanho da lesão do lado instrumentado do grupo 1 foi de 0,80182 e a do grupo 2 foi de 1,373, apresentando uma diferença estatística significativa (p- valor 0,002) entre os grupos (tabela 5).

A média do tamanho da lesão do lado não instrumentado do grupo 1 foi de 1,45250 e a do grupo 2 foi de 1,69950, não apresentando uma diferença estatística significativa (p- valor 0,111) entre os grupos (tabela 6).

Tabela 5: Média do tamanho da lesão das amostras do lado instrumentado.

Variáveis	N	Tamanho da lesão		p
		Media	Desvio padrão	
Grupo 1 (Com Limpeza Canal Cementário)	12	0,80182	0,458988	0,002
Grupo 2 (Sem Limpeza Canal Cementário)	10	1,37370	0,269604	0,002

Tabela 6: Média do tamanho da lesão das amostras do lado não instrumentado

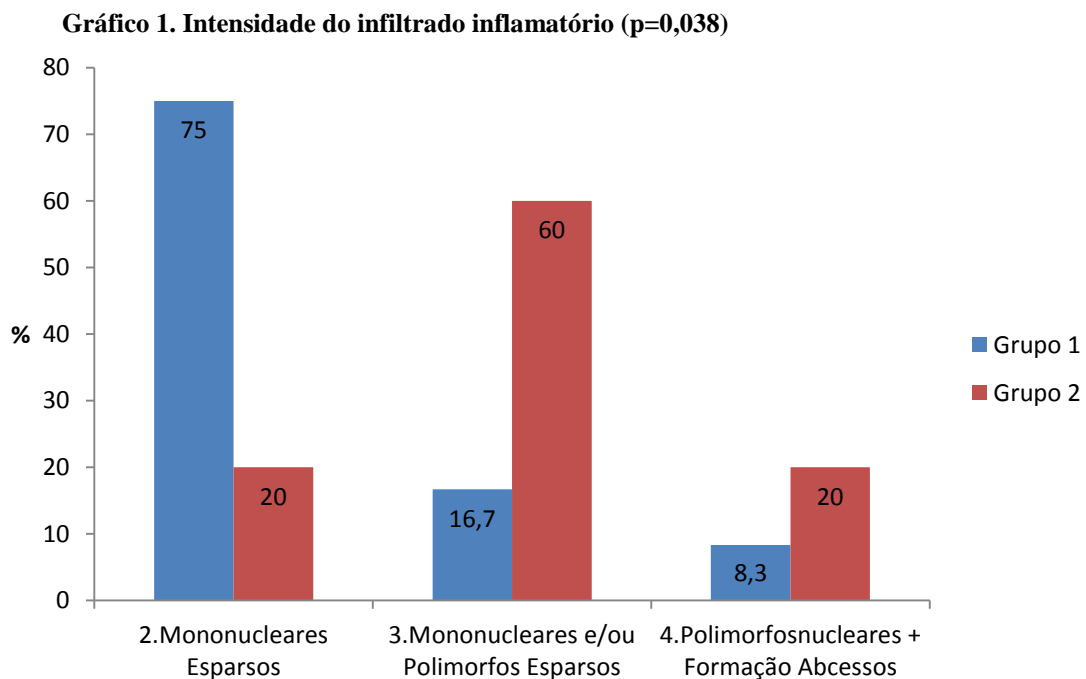
Variáveis	N	Tamanho da lesão		p
		Media	Desvio padrão	
Grupo 1 (Com Limpeza Canal Cementário)	12	1,45250	0,446008	0,111
Grupo 2 (Sem Limpeza Canal Cementário)	10	1,69950	0,224	0,111

Para análise histológica, foi realizado o Teste Exato de Fisher. Três aspectos foram analisados: intensidade do infiltrado inflamatório, reabsorção do cimento apical e neoformação de cimento/selamento biológico.

Inicialmente foi analisada a intensidade do infiltrado inflamatório. O grupo 1 apresentou resultado superior (menor intensidade) quando comparado ao grupo 2 (p-valor 0,038) (Tabela 7 e Gráfico 1)

Tabela 7: Intensidade do infiltrado inflamatório

Variáveis	Ausente		Mononucleares esparsos		Mononucleares e/ou Polimorfos esparsos		Polimorfos + formação abscesso		p
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Grupo 1	0	0	9	75	2	16,7	1	8,3	0,038
Grupo 2	0	0	2	20	6	60	2	20	0.038

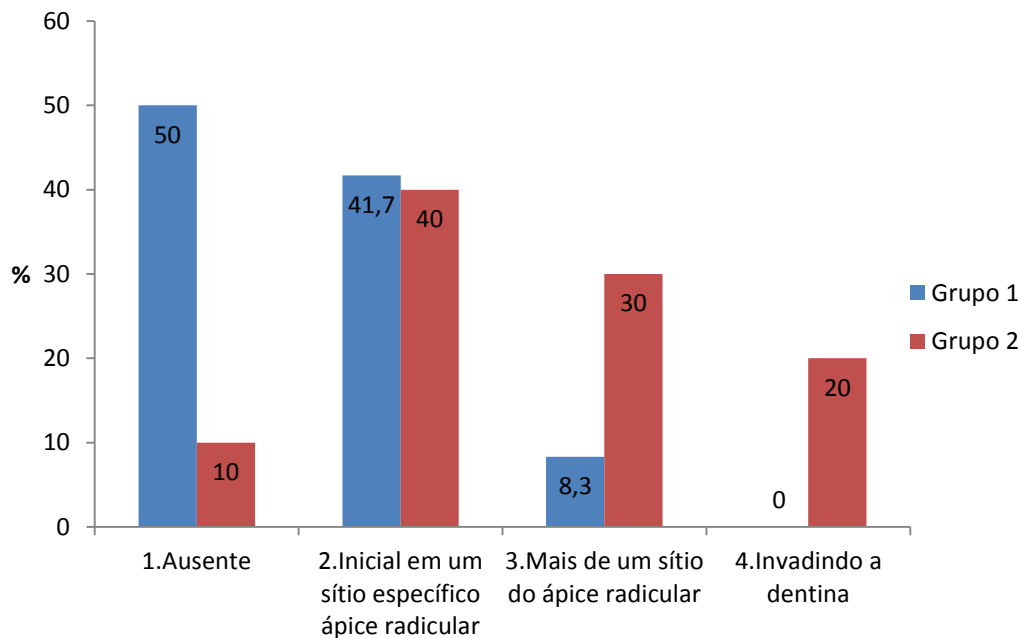


Na sequência foi analisada a reabsorção do cimento apical. Não foi encontrada diferença estatística entre os grupos 1 e 2 (p-valor 0,106) (Tabela 8 e Gráfico 2)

Tabela 8: Reabsorção do cimento apical.

Variáveis	Ausente		Inicial em sítio específico ápice radicular		Mais de um sítio do ápice radicular		Invadindo a dentina		p-valor
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Grupo 1	6	50	5	41,7	1	8,3	0	0,0	0,106
Grupo 2	1	10	4	40	3	30	2	20	0.106

Gráfico 2: Reabsorção do cimento apical (p: 0,106).

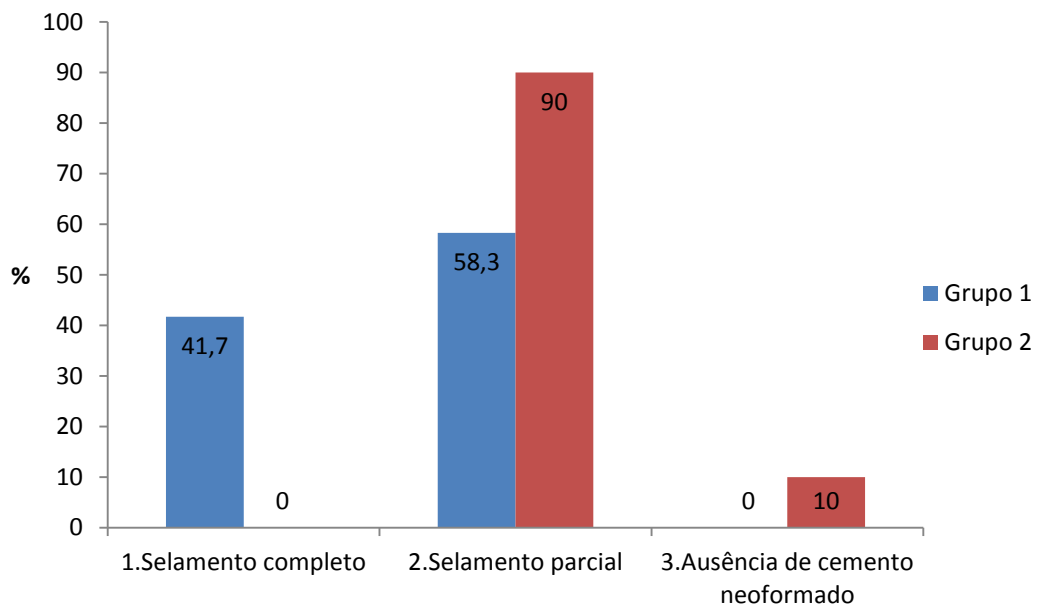


Por fim, ao ser analisada a neoformação de cimento/ selamento biológico, foi encontrado melhor resultado no grupo 1 quando comparado ao grupo 2 (Tabela 9 e Gráfico 3).

Tabela 9: Neoformação de cimento/selamento biológico

Variáveis	Selamento completo		Selamento parcial		Ausência de cimento neoformado		p-valor
	n	%	n	%	n	%	
Grupo 1	5	41,7	7	58,3	0	0,0	0,040
Grupo 2	0	0,0	9	90	1	10	0,040

Gráfico 3: Neoformação de cimento/ selamento biológico (p:0,040)



7.0. DISCUSSÃO

7.1. Escolha do modelo experimental

A recomendação de novas técnicas e materiais para aplicação em seres humanos torna necessários estudos prévios em modelos experimentais. Devido a aspectos éticos, espécimes cirúrgicos derivados de humanos são cada vez mais difíceis de obter, razão pela qual os estudos experimentais em animais se tornaram fundamentais.

O estudo do processo de reparo das lesões periapicais em animais permite que o dente e os tecidos periapicais sejam examinados histologicamente e não apenas radiograficamente, como o estudo em humanos, permitindo a análise mais segura do comportamento tecidual frente aos procedimentos realizados. Outra vantagem é poder-se utilizar uma amostragem padronizada, tornando os resultados mais confiáveis. Além disso, em pesquisas clínicas em humanos é mais difícil de se obter uma padronização da amostragem.

Muitos estudos na literatura utilizaram cães^{11,23,24} como modelo experimental. Neste estudo optou-se pela utilização de ratos devido à sua fácil obtenção, custo reduzido, resposta biológica mais rápida e semelhança no desenvolvimento de alterações periapicais^{17,18,25,26,27,28}.

Ratos são muito utilizados como modelo experimental para indução de lesão periapical em pesquisas na área de endodontia^{15,16,17,18,26}. Métodos para o preparo químico-mecânico também podem ser encontrados na literatura^{25,27}, entretanto em menor frequência, visto que as dimensões reduzidas dos dentes e limitada abertura bucal dificultam muito a sua manipulação. Para diminuir essas limitações, os animais foram acomodados em uma mesa operatória especial e utilizados dispositivos para manutenção da abertura bucal¹⁵.

Foram utilizados ratos com 2 meses de idade por já serem considerados animais adultos jovens com desenvolvimento radicular completo²⁷. O primeiro molar inferior foi eleito por apresentar acesso e manipulação mais fáceis durante o tratamento endodôntico^{25,29}.

A anatomia dentária do primeiro molar inferior do rato apresenta uma coroa dentária de forma trapezoidal, maior no sentido mesio-distal e apresenta 7 cúspides: mesio-lingual, mesio-

vestibular, centro-mesio-lingual, centro-mesio-vestibular, centro-disto-lingual, centro-disto-vestibular e distal³⁰. A anatomia radicular apresenta quatro raízes (mesial, centro-lingual, centro-vestibular e distal). Sua anatomia é semelhante à do humano, apresentando canal único e reto, que termina em forame apical e, ocasionalmente, em múltiplas foraminas, diferenciando-se apenas quanto ao tamanho, que é bastante reduzido³¹. No presente trabalho, utilizou-se o canal mesial que é o mais longo, reto, fácil acesso, mais amplo, apresenta secção transversal oval e forame apical posicionado centralmente³¹.

7.2. Lesão periapical

Lesões periapicais são as patologias odontogênicas periapicais mais frequentemente diagnosticadas em dentes humanos. Inicialmente, a polpa torna-se necrosada e infectada por uma microbiota bucal autógena. O ambiente endodôntico proporciona um habitat seletivo para o estabelecimento de uma infecção mista, predominando bactérias anaeróbias, que possuem várias propriedades biológicas e patogênicas, podendo avançar e atingir o periápice³².

A condição é geralmente descrita como periodontite apical, representada por desordem inflamatória dos tecidos periapicais causada por infecção microbiana do sistema de canais radiculares^{32,33}.

A indução da lesão periapical através da exposição pulpar ao meio bucal foi o método utilizado por Kakehashi et al., que em 1965¹⁷, relataram a importância do papel dos microrganismos na etiopatogenia pulpar. Esses pesquisadores analisaram a resposta da polpa de ratos convencionais e *germ free* quando exposta à cavidade oral. Observaram necrose pulpar apenas nos ratos convencionais e formação de pontes de dentina e reparo tecidual nos ratos *germ free*, concluindo que os microrganismos são fatores determinantes na etiopatogenia pulpar e periapical. Desde então vários autores vem utilizando esse protocolo^{15,16,18,26,28}.

Neste presente estudo, após o acesso, foi introduzida uma lima endodôntica no canal radicular com o intuito de promover a exposição da cavidade pulpar ao meio bucal e remover a polpa para evitar qualquer sintomatologia dolorosa.

A reação periapical provocada pela exposição pulpar no rato apresenta a mesma evolução que no homem e no cão, resultando na formação de granuloma periapical¹⁸.

Alguns autores^{18,28} observaram desenvolvimento rápido de lesões periapicais induzidas em ratos a partir de 7 dias, considerando a fase ativa e contínuo crescimento da lesão até o 15º dia. A partir desse período, o crescimento torna-se lento, caracterizando a fase crônica. O presente estudo corroborou com os estudos anteriores, confirmando o desenvolvimento de lesão periapical após exposição da cavidade pulpar ao meio bucal por 21 dias.

Independente da caracterização da lesão periapical como aguda ou crônica, o fator etiológico é a infecção microbiana dos canais radiculares^{17,34}. Portanto é necessária a remoção desses microrganismos através do tratamento endodôntico. Na presença de lesão periapical induzida em ratos e que nenhum tratamento endodôntico tenha sido realizado, há uma persistência e possivelmente aumento da lesão periapical²⁹.

7.3. Preparo do canal

A presença de lesão periapical influencia diretamente no prognóstico do tratamento endodôntico³⁵. A literatura demonstra índice de sucesso maior em tratamento endodôntico de dentes com polpa viva quando comparado a aqueles com necrose pulpar, sendo este índice ainda maior quando se compara com o tratamento endodôntico de dentes com lesão periapical^{36,37}.

Assim, o objetivo durante o tratamento endodôntico em dentes que apresentam canais contaminados, é a completa limpeza e desinfecção dos canais radiculares, o que propicia um ambiente favorável ao reparo das lesões periapicais. O insucesso do tratamento endodôntico pode ser atribuído à limpeza deficiente dos canais radiculares durante a terapia endodôntica e persistência de microrganismos no canal radicular³² devido ao preparo inadequado da cavidade de acesso, má instrumentação e obturação dos canais radiculares e presença de infiltração marginal devido à restauração coronária deficiente³⁸.

Portanto, o preparo químico- mecânico tem por objetivo a limpeza e modelagem do canal radicular através do uso de instrumentos endodônticos, substâncias ou soluções químicas auxiliares e da irrigação-aspiração^{39,40}.

Para que ocorra uma melhor limpeza e remoção de microrganismos, é necessário que os canais sejam instrumentados a diâmetros maiores na região apical, possibilitando melhor contato das substâncias irrigadoras, promovendo assim uma ação mais efetiva e melhor prognóstico⁴¹.

Devido ao pequeno diâmetro do canal radicular do dente do rato, a técnica de instrumentação deste experimento foi realizada pela exploração inicial do canal radicular com lima K 10 e posterior uso sequencial das limas K 15-20-25-30 pela técnica seriada, com todas as limas sendo utilizadas no comprimento de trabalho estabelecido. A instrumentação até a lima #30 foi baseada como o mínimo necessário para penetração mais efetiva de substância irrigadora no terço apical^{20,21}. Devido à pequena dimensão do dente, optou-se por não fazer um maior alargamento e conicidade do canal radicular. Essa dimensão também representa um fator de dificuldade no momento do preparo químico-mecânico, razão pela qual para minimizá-la, foram utilizadas limas adaptadas previamente curvadas em 90 graus em torno dos 5 mm finais da sua parte ativa.

Pelas propriedades que lhe são atribuídas, tais como atividade antimicrobiana e solvente de matéria orgânica⁴², lubrificante e baixa tensão superficial³⁹, durante o preparo do canal a solução irrigadora utilizada foi o hipoclorito de sódio a 2,5%. Para manter a sua efetividade, a solução irrigadora era renovada a cada troca de limas.

7.4. Determinação do comprimento de trabalho

O comprimento de trabalho é definido como a distância que vai de um ponto de referência coronário até o limite CDC, limite este geralmente descrito como local de menor diâmetro do canal radicular, também chamado de constrição apical (forame apical menor)^{43,44}.

Para determinarmos o comprimento de trabalho, o conhecimento morfológico do canal cementário é de suma importância visto que a limpeza e instrumentação deficientes desse local pode acarretar a perpetuação de microrganismos, levando ao insucesso do tratamento endodôntico.

Didaticamente o conceito clássico de anatomia do ápice radicular é baseado em três divisões anatômicas e histológicas na região apical da raiz: constrição apical (CA), junção dentino-cementária (limite CDC), e o forame apical (FA)³³.

O forame apical menor, também conhecido como o ponto de constrição apical, foi descrito como a porção mais estreita do canal e representa o local em que a polpa e o tecido periodontal se comunicam. Apresenta uma grande variação na sua localização a cerca de 1 mm aquém do forame apical maior, podendo ser diferente da localização do limite CDC⁴⁵.

O forame apical maior se apresenta como uma circunferência no fim do canal radicular e constitui a sua saída da raiz⁴⁶. A junção cimento-dentinária, também conhecida como limite CDC (canal-dentina-cemento), é o ponto de encontro do canal dentinário e cementário, não coincidindo com a constrição apical, sendo apenas uma condição histológica e não clínica nos canais radiculares⁴⁵.

A odontometria é um dos fatores de maior importância para um correto tratamento. Dentre as técnicas preconizadas, temos a da sensação tátil, métodos radiográficos e métodos eletrônicos⁴⁴. Os métodos radiográficos ainda são muito utilizados na clínica, porém a identificação da constrição apical (forame apical menor) através do exame clínico e radiográfico não tem encontrado o devido respaldo científico.

Apesar da sua larga utilização⁴⁴, as reconhecidas limitações da radiografia periapical impostas por aspectos como a sua imagem bidimensional e a também reconhecida complexidade anatômica apical fazem com que a determinação do comprimento de trabalho represente uma dificuldade adicional para o endodontista. A partir do surgimento dos localizadores foraminais, tem-se conseguido resultados satisfatórios com a odontometria eletrônica. Por essas razões, optou-se por utilizar este procedimento na tentativa de se estabelecer um comprimento de trabalho o mais preciso possível.

No presente trabalho, utilizou-se um localizador foraminal de terceira geração (SybronEndo). Este método foi validado através de estudo piloto com 5 ratos para testar a confiabilidade do aparelho. Foi introduzida uma lima K #10, que ao chegar na constrição apical o aparelho emitia um bipe, sendo então realizado o recuo de 1mm. Uma radiografia periapical,

confirmava então a confiabilidade do aparelho em torno de 1 mm aquém do ápice radiográfico.

7.5. Obturação canal radicular

O objetivo clássico da obturação é prevenir a infecção ou reinfecção, evitando a infiltração de fluidos periapicais através do preenchimento de todo espaço do sistema de canais. A técnica utilizada neste presente trabalho foi a do cone único que consiste na associação de um cimento obturador com material central sólido. A obturação foi realizada com cones de guta percha que tem uma aceitável biocompatibilidade e baixa toxicidade⁴⁷.

Dentre os cimentos utilizados constantemente na prática clínica, podemos citar os à base de hidróxido de cálcio, resinoso e óxido de zinco e eugenol. Todos eles apresentam um efeito irritante aos tecidos periapicais. Mesmo que o objetivo durante a obturação do canal seja que o material obturador fique apenas no interior dos canais, existe sempre o risco de extravasamento, maior ou menor de acordo com a técnica de instrumentação e obturação.

No presente trabalho, as chances de extravasamento no grupo em que foi realizada a instrumentação do canal cementário eram maiores, visto que houve a manipulação e alargamento do forame apical, podendo então ser uma desvantagem durante o processo de reparo. Com o objetivo de reduzir este inconveniente, o cimento utilizado foi à base de resina (AH Plus) que apresenta biocompatibilidade^{48,49}, provocando pouca reação quando em contato com o tecido periapical

7.6. Escolha do método radiográfico

A radiolucidez periapical é o principal sinal indicativo da presença da lesão periapical, sendo a radiografia periapical, convencional ou digital, o principal método auxiliar utilizado para diagnóstico.

Atualmente são descritos dois métodos de análise radiográfica para avaliar o reparo periapical após tratamento de canal em dentes com doença periapical. No primeiro, a reparação é avaliada subjetivamente em relação às características da área radiolúcida, e a segunda envolve a medição da lesão⁵⁰. No presente trabalho, optou-se pelo segundo método por ser mais

preciso. As áreas foram obtidas através do programa ImageJ, sendo a mesma circundada para obtenção do tamanho da área.

Nem sempre a lesão presente, é detectada pela radiografia periapical⁵¹ pois as mesmas fornecem imagens bidimensionais de uma estrutura tridimensional, não permitindo que lesões periapicais que estejam em áreas apresentando uma cortical óssea mais espessa seja detectada⁵².

A tomografia computadorizada (TC) tem sido amplamente difundida da Endodontia e sua relevância se deve ao fato de detectar radioluscência periapical não detectada pelo exame radiográfico periapical. No estudo de Paula-Silva *et al.*,⁵⁰, os autores observaram que a avaliação do reparo periapical com TC forneceu informações semelhantes a obtida por análise microscópica, ao passo que a avaliação radiográfica subestimou o tamanho da lesão periapical. Destacaram que a TC apresentou maior extensão mesio distal quando comparada com radiografias convencionais, podendo estar relacionada com sobreposição de estruturas anatômicas que pode mascarar o tamanho real da lesão.

Contudo, no presente estudo, optou-se por realizar radiografias convencionais, submetidas posteriormente à digitalização, para análise radiográfica. A escolha deve-se ao fato de ser um método conhecido, de baixo custo e acessível. Pode-se observar que a digitalização da imagem apresentou vantagens na sua interpretação, tendo a possibilidade de manipulação da imagem com relação às funções de brilho e contraste.

7.7. Resultados

A análise radiográfica após período experimental da presente pesquisa demonstrou uma extensa área da lesão periapical no grupo controle. Isso já era de se esperar, visto que nesse grupo, após o dente ficar exposto ao meio oral durante todo o experimento, não foi realizado nenhum tratamento endodôntico. Portanto, como não foi removida a causa, ou seja, a infecção do sistema de canais radiculares, por meio do preparo químico-mecânico, houve a persistência da lesão periapical.

Na análise radiográfica, todas as medidas dos grupos 1 e 2 foram menores quando comparadas com as do grupo controle em que nenhum tratamento foi realizado, demonstrando

que independente da instrumentação ou não do canal cementário, o tratamento endodôntico é indispensável para regressão da lesão.

Entre os grupos 1 e 2 pode-se observar uma diferença estatisticamente significativa no tamanho das lesões, sendo estas menores no grupo 1, em que foi realizada a instrumentação do canal cementário.

Os resultados deste trabalho não corroboram com os de Guimaraes *et al.*,⁵³, em que os autores não encontraram diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos, chegando a sugerir que a quantidade mínima de bactérias remanescentes situadas nesta região não seria suficiente para manter a reação periapical. Essa divergência de resultados pode ser devida às diferenças nas metodologias utilizadas, visto que no trabalho de Guimarães *et al.*,⁵³ as lesões foram avaliadas subjetivamente em relação as características da área radiolúcida, onde os casos considerados bem sucedidos foram aqueles em que houve resolução parcial ou completa das lesões periapicais enquanto que no presente trabalho foi realizada a aferição do tamanho da lesão. Devido às dificuldades técnicas durante a pesquisa, não foi possível a realização da radiografia periapical inicial do lado instrumentado para posterior comparação com as radiografias realizadas após a eutanásia. Apesar de não ser possível afirmar que o tamanho da lesão /periapical induzida no grupo controle tenha sido o mesmo do lado instrumentado, talvez se possa inferir que a média entre os dois grupos tenha sido semelhante, visto que não houve diferenças estatísticas significante entre o tamanho da lesão do grupo controle entre o Grupo 1 e o Grupo 2.

Apesar da avaliação radiográfica ser o método mais utilizado para a identificação de lesões perapicais, a radiografia periapical sozinha não fornece uma detecção precisa das lesões periapicais nas suas fases iniciais. Estudos vêm demonstrando que achados radiológicos nem sempre estão de acordo com os sinais histopatológicos⁵⁴. A análise histológica é um método mais preciso para detecção de alterações periapicais, sendo considerado padrão ouro.

Os 3 eventos utilizados na análise histológica dos resultados, intensidade do infiltrado inflamatório, reabsorção do cimento apical e neoformação do cimento apical/selamento biológico caracterizam a presença ou não do reparo periapical.

Nos resultados histológicos, foi encontrado melhor resultado no grupo em que foi realizada a instrumentação do canal cementário (grupo 1) quando comparado com grupo que não foi realizada a instrumentação do canal cementário (grupo 2), conforme demonstrado nas tabelas 7,8 e 9.

Os resultados obtidos neste experimento, em seu conjunto, sugerem que a instrumentação do canal cementário cria um ambiente mais favorável para o reparo tecidual, possivelmente devido ao controle mais efetivo da infecção que a limpeza do canal cementário parece proporcionar.

Em todas as amostras foi encontrado infiltrado inflamatório, o que talvez possa ser atribuído ao tempo de observação (4 semanas), talvez insuficiente para apresentar um completo reparo. O resultado vai de encontro ao estudo de Borlina *et al.*,¹¹ que encontraram inflamação crônica em 95% das amostras e inflamação aguda em 65% das amostras. Segundo estes autores, o resultado encontrado foi devido a biocompatibilidade do cimento e presença de restos necróticos.

No grupo 1 foi encontrado maior presença de células inflamatórias crônicas, apresentando 75% de mononucleares esparsos bem como estudo de Borlina *et al.*,¹¹ que apresentou predomínio de fibroblastos e quantidade de células inflamatórias crônicas.

Em relação ao selamento biológico, todos os espécimes do grupo 1 apresentaram selamento completo ou parcial com a neoformação de cimento. Em nenhum espécime do grupo 2 houve selamento completo, podendo ser atribuído a maior remoção de cimento infectado no grupo 1 e conseqüentemente uma limpeza mais efetiva. Este resultado vai de encontro ao estudo de Borlina *et al.*,¹¹ que também encontraram melhores resultados no grupo em que foi realizada a instrumentação do canal cementário.

Contudo, discordando dos resultados do presente trabalho, Ricucci e Langeland⁸, encontraram piores resultados no grupo em que foi realizada a instrumentação do canal cementário com reação inflamatória grave. A extrusão de material obturador e, conseqüentemente, sobreobturação devido à ausência de selamento biológico, diminuíram as chances do processo de reparo. A divergência nos resultados entre os estudos pode ser devido a diferença no limite apical de obturação.

Muitos autores acreditam que o tratamento endodôntico deve ser realizado no canal dentinário (1-2 mm aquém do ápice radiográfico) para preservar o coto pulpar nos casos de polpa viva, evitando-se danos aos tecidos apicais e periapicais^{6,8}.

Entretanto, nos casos de necrose pulpar e infecção do canal sabe-se que essa porção não instrumentada do canal possui espaço físico suficiente para abrigar uma quantidade significativa de microrganismos³⁴.

Particularmente nos canais com lesão periapical, o terço apical, onde se inclui o canal cementário, está infectado, com predomínio de bactérias anaeróbias^{55,56}. Diante disso, é possível que a instrumentação dessa porção do canal exerça ação importante no controle de infecção, favorecendo assim o processo de reparo.

O risco de extrusão de material para os tecidos periapicais, faz com que a instrumentação do canal cementário não seja um procedimento adotado rotineiramente e uma das razões para isso é o receio de causar trauma aos tecidos periapicais e conseqüentemente dor pós-operatória^{57,58,59,60}.

O presente trabalho apresentou um espécime do grupo 1 com extrusão de uma “lasca” de cimento para região periapical. Para minimizar o risco de extrusão, durante a instrumentação do canal cementário foram realizados os movimentos oscilatórios preconizado por De Deus⁶¹ evitando-se com isso o movimento de limagem e maior chance de extrusão.

Apesar de todas as técnicas causarem algum grau de extrusão de material para os tecidos periapicais, é possível que a instrumentação do forame apical apresente uma chance maior de reparo quando comparada à instrumentação a 1 mm aquém⁹ visto que os insucessos estão particularmente associados à presença de infecção⁶². Os resultados radiográfico e histológico do presente trabalho vão ao encontro dessa possibilidade, concordando com estudos anteriores^{9,11,24,57,63}.

Souza Filho *et al.*,²⁴ e Souza Filho *et al.*,⁶⁴ observaram resultados favoráveis ao reparo através da neoformação de tecido conjuntivo no interior da porção apical do canal quando realizado a ampliação do forame apical. Apesar da amplitude com instrumentos mais calibrosos (limas

#40, #60 e #80) ter sido considerada de fundamental importância para que ocorresse a invaginação²⁴, Souza Filho *et al.*,⁶⁴ observaram excelente reparação com neoformação de tecido conjuntivo através do alargamento com limas #25 e #40, encontrando completa formação de tecido mineralizado mais freqüentemente com maior período de tempo (360 dias).

O aumento do calibre da lima durante a instrumentação do canal cementário produz uma maior eliminação dos detritos remanescentes e limpeza mais efetiva^{41,65}. Butler⁶³ preconizou que o forame apical deve ser instrumentado inicialmente com uma lima que se ajusta à constrição do canal, seguida de mais dois tamanhos. Porém Souza *et al.*,¹⁴ ao analisar o ajuste da lima no forame apical em incisivos centrais superiores através de microscopia eletrônica de varredura, observaram diferença significativa entre as áreas da lima e forame apical, sugerindo que para uma melhor relação de ajuste entre ambos seriam necessárias 4 limas de maior calibre além daquela adaptada ao forame apical menor. Em virtude da pequena dimensão do dente do modelo experimental, na presente pesquisa ela foi realizado até a lima #25, semelhante à utilizada por Borlina *et al.*,¹¹ e Souza Filho *et al.*,⁶⁴.

De acordo com os resultados deste trabalho, a instrumentação do canal cementário no tratamento endodôntico de canais com lesão periapical parece criar condições mais favoráveis ao reparo tecidual, o que pode sugerir a sua realização como um procedimento recomendável. Mais trabalhos investigativos sobre esse tema devem ser realizados.

8.0. Conclusão

Dentro das condições experimentais do presente estudo e baseando-se nos escores atribuídos aos diferentes eventos histológicos pela análise estatística, é possível concluir que a instrumentação do canal cementário em dentes com lesão periapical favorecem o reparo tecidual.

REFERÊNCIAS

1. Yared GM, Bou Dagher FE. Influence of apical enlargement on bacterial infection during treatment of apical periodontitis. *J Endod* 1994;20:535-37.
2. Souza RA, Dantas JCP, Brandão PM, Colombo S, Lago M, Duarte, MAHD. Apical third enlargement of the root canal and its relationship with the repair of periapical lesions. *Eur J Dent* 2012;6:385-388.
3. Ferrari PHP, Bombana AC. A infecção endodôntica e a sua resolução. São Paulo: Santos, 2010. 358p.
4. Buchanan LS. Management of the curved root canal. *J Calif Dent Assoc* 1989;17(4): 18-25.
5. Cailleteau JG, Mullaney TP. Prevalência de ensinar patência apical e várias técnicas de instrumentação e obturação em escolas dos Estados Unidos dentários. *J Endod* 1997;23: 394-396.
6. Holland R, Sant'anna Júnior A, Souza V, Dezan Junior E, Otoboni Filho JA, Bernabé PFE, Nery MJ, Murata SS. Influence of apical patency and filling material on healing process of dog's teeth with vital pulp after root canal therapy. *Dent Braz J* 2005;16:9-16.
7. Ricucci D. Apical limit of root canal instrumentation and obturation, part 1. Literature review. *Int Endod J* 1998;31:384-393.
8. Ricucci D, Langeland K. Apical limit of root canal instrumentation and obturation, part 2. A histological study. *Int J Endod* 1998;31:394-409.
9. Souza, RA. The importance of apical patency and cleaning of the apical foramen on root canal preparation. *Braz Dent J* 2006;17(1):6-9.
10. Coldero LG, McHugh S, MacKenzie D, Saunders WP. Reduction in intracanal bacteria during root canal preparation with and without apical enlargement. *Int Endod J* 2002;35:437-446.
11. Borlina SC, Souza V, Holland R, Murata SS, Gomes-Filho JE, Dezan Junior E, et al. Influence of apical foramen widening and sealer on the healing of chronic periapical lesions induced in dogs' teeth. *O Surg O Med O Pathol O Radiol and Endod* 2010;109:932- 940.
12. Mickel AK, Chogle S, Liddle J, Huffaker K, Jones JJ. The role of apical size determination and enlargement in the reduction of intracanal bacteria. *J Endod* 2007;33:21-23.

13. Beeson TJ, Hartwell GR, Thornton JD, Gunsolley JC. Comparison of debris extruded apically in straight canals: conventional filing versus profile .04 taper series 29. *J Endod* 1998;24:18-22.
14. Souza RA, Sousa YTCS, Figueiredo JAP, Dantas JCP, Colombo S, Pecora JD. Relationship between Files that Bind at the Apical Foramen and Foramen Openings in Maxillary Central Incisors - A SEM Study. *Braz Dent J* 2011;22:455-59.
15. Scarparo RK, Dondoni L, Bottcher DE, Greca FS, Rockenback MI, Batista EL Jr. Response to intracanal medication in immature teeth with pulp necrosis: an experimental model in rat molars. *J Endod* 2011;37:1069-73.
16. Duarte PCT, Gomes-Filho JE, Ervolino E, Sundefeld MLMM, Wayama MT, Lodi CS, Junior ED, Cintra LTA. Histopathological Condition of the Remaining Tissues after Endodontic Infection of Rat Immature Teeth. *Journal of Endodontics* 2014;40(4):538-42.
17. Kakehasi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposure of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965;20:340-9.
18. Stashenko P, Tani-Ishii N, Yu SM. Pathogenesis of induced rat periapical lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994;78:494-502.
19. Mahl CR, Fontanella V. Evaluation by digital subtraction radiography of induced changes in the bone density of the female rat mandible. *Dentomaxillofac Radiol* 2008;37:438-44.
20. Fornari VJ, Silva-Sousa YTC, Vanni JR, Pécora JD, Versiani MA, Sousa-Neto MD. Histological evaluation of the effectiveness of increased apical enlargement for cleaning the apical third of curved canals. *Int Endod J* 2010;43:988-94.
21. Khademi A, Yazdizadeh M, Feizianfard M. Determination of the minimum instrumentation size for penetration of irrigants to the apical third of root canal systems. *Journal of Endodontics* 2006;32:417-20.
22. Gomes MS, Barletta FB, Della Bona A, Vanni JR, Pereira CC, Figueiredo JAP. Microbial leakage and apical inflammatory response in dog's teeth after root canal filling with different sealers, post space preparation and exposure to the oral environment. *J Appl Oral Sci* 2007;15(5):429-36.

23. Holland R, Filho JAO, Souza V, Nery MJ, Bernabé PFE, Dezan E. A Comparison of One Versus Two Appointment Endodontic Therapy in Dogs' Teeth with Apical Periodontitis. *Journal of endodontics* 2003;29(2):121-24.
24. Souza-Filho FJ, Benatti O, Almeida OP. Influence of the enlargement of the apical foramen in periapical repair of contaminated teeth of dog. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1987;64:480-4.
25. Eurasquim J., Muruzabal MA. A method for root canal treatment in the molar of rat. *Oral Surg*, 1967;24(4):540-6.
26. Tagger M, Massler M. Periapical tissue reactions after pulp exposure in rat molars. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1975;39(2):304-17.
27. Sato EFL, Antoniazzi JH. A new method for endodontic treatment in molar of rats. *Braz Dent J.* 1993;4(2):73-77.
28. Liu L, Wang I, Wu Y, Peng B. The expression of MCP-1 and CCR2 in induced rats periapical lesions. *Archives of Oral Biology* 2014;59(5):492-99.
29. Daniel RLDP. Análises radiográfica e microscópica do processo de reparo de lesões periapicais após o emprego de medicação intracanal em dentes de ratos. São Paulo, 2001. 114p. Tese (Doutorado em Endodontia) Faculdade de Odontologia de São Paulo. Universidade de São Paulo.
30. Johannessen LB. Presence of enamel-covered cusps in rat molar. *Arch Oral Biol* 1961;5:61-2.
31. Carvalho RA. Estudo microscópico das alterações dos tecidos apicais e periapicais de dentes de ratos frente a técnicas de moldagens de cone de guta-percha. Bauru, 1992. 133f. Tese(Doutorado em Endodontia)- Faculdade de Odontologia de Bauru.
32. Nair PN. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004;15(6):348-381.
33. Cohen, S. & Hargreaves, K. *Caminhos da Polpa*. 9. São Paulo: Mosby, 2009. 1078p.
34. Ricucci D, Siqueira JF. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J Endod* 2010;36:1277-88.
35. Su Y, Wang C, Ye L. Healing Rate and Post-obturation Pain of Single- versus Multiple-visit Endodontic Treatment for Infected Root Canals: A Systematic Review. *Journal of Endodontics* 2011; 37(2):125-32.

36. Sjogren U, Hagglund B, Sundqvist G, Wing K. Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. *J Endod* 1990;16(10):498-504.
37. Kojima K, Inamoto K, Nagamatsu K, Hara A, Nakata K, Morita I, Nakagaki H, Nakamura H. Success rate of endodontic treatment of teeth with vital and nonvital pulps. A meta-analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2004;97(1):95-9.
38. Alafif H. Impact of the quality of coronal restoration and root canal filling on the periapical health in adult Syrian subpopulation. *Indian Journal of Dentistry*, In Press, Corrected Proof, Available online 11 March 2014.
39. Lopes HP, Siqueira JF Jr (2004). *Endodontia. Biologia e Técnica*. 2ª Ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
40. Paredes-Vieyra J, Enriquez FJJ. Success Rate of Single-versus Two-visit Root Canal Treatment of Teeth with Apical Periodontitis: A Randomized Controlled Trial. *Journal of Endodontics*. 2012; 38(9):1164-69.
41. Marinho ACS, Martinho FC, Zaia AA, Ferraz CCR, Gomes BPPA. Influence of the apical enlargement size on the endotoxin level reduction of dental root canals. *J Appl Oral Sci* 2012;20(6):661-6.
42. Rôças IN, Siqueira Jr JF. Comparison of the In Vivo Antimicrobial Effectiveness of Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Used as Root Canal Irrigants: A Molecular Microbiology Study. *Journal of Endodontics* 2011;37(2):143-150.
43. Cimilli H, Aydemir S, Kartal N, Chandler N. Comparing the accuracy of four electronic apex locators for determining the minor diameter: An ex vivo study. *Journal of Dental Sciences* 2013;8(1): 27-30.
44. Tuncer Ak, Gerek M. Effect of Working Length Measurement by Electronic Apex Locator or Digital Radiography on Postoperative Pain: A Randomized Clinical Trial. *Journal of Endodontics* 2014;40(1):38-41.
45. Hassanien EE, Hashem A, Chalfin H. Histomorphometric Study of the Root Apex of Mandibular Premolar Teeth: An Attempt to Correlate Working Length Measured with Electronic and Radiograph Methods to Various Anatomic Positions in the Apical Portion of the Canal. *J Endod* 2008;34(4):408-12.
46. Simon JH. The Apex: how critical is it?. *Gen Dent* 1994;42(4):330-34.

47. Wolfson EM, Seltzer S. Reaction of rat connective tissue to some gutta-percha formulations. *J Endodon* 1975;1:395-402.
48. Leonardo MR, Salgado AAM, Silva LAB, Tanomaru Filho M. Apical and periapical repair of dogs' teeth with periapical lesions after endodontic treatment with different root canal sealers. *Pesquisa Odontológica Brasileira* 2003;17(1):69-74.
49. Tanomaru-Filho M, Tanomaru JMG, Leonardo MR, Silva LAB. Periapical repair after root canal filling with different root canal sealers. *Braz Dent J*. 2009; 20(5):389-395.
50. De Paula-Silva FWG, Santamaria Jr M, Leonardo MR, Consolaro A, Da Silva LA. Cone-beam computerized tomographic, radiographic and histologic evaluation of periapical repair in dogs' post-endodontic treatment. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics* 2009;108:796–805.
51. Barthel CR, Zimmer S, Trope M. Relationship of radiologic and histological signs of inflammation in human root-filled. *J Endod* 2004;30:70-9.
52. Wu MK, Dummer PMH, Wesselink PR. Consequences of and strategies to deal with residual post-treatment root canal infection. *Int Endod J* 2006;39:343-56.
53. Guimarães CS, Sampaio GC, de Almeida EB, Silva LB, Mourato AP, Alves DF. Influence of apical foramen cleaning on periapical lesion repair. *Rev. Fac. Odontol. Porto Alegre* 2011;52(1/3):45-47.
54. Tanomaru-Filho M, Jorge EG, Duarte MA, Gonçalves M, Guerreiro-Tanomaru JM. Comparative radiographic and histological analyses of periapical lesion development. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;107(3):442-7.
55. Subramanian K, Mickel AK. Molecular analysis of persistent periradicular lesions and root ends reveals a diverse microbial profile. *J Endod* 2009;35(7): 950-57.
56. Ricucci D, Loghin S, Siqueira Jr. JF. Exuberant Biofilm Infection in a lateral canal as the cause of short – term endodontic treatment failure: report of a case. *Journal of Endodontics* 2013;39(5):712-18.
57. Souza RA. Limpeza de forame- uma análise crítica. *JBE* 2000;1(2):72-8.
58. Arias A, Azabal M, Hidalgo JJ, de la Macorra JC. Relationship between postendodontic pain, tooth diagnostic factors and apical patency. *J Endod* 2009;35(2):189-92.

59. Gurgel-Filho ED, Castelo-Branco YN, Maniglia-Ferreira C, Souza-Filho FJ, Coutinho-Filho T. In vivo evaluation of post-operative pain in vital pulps after the foramen enlargement. RFO UPF 2010;15(2):145-49.
60. Silva EJNL, Menaged K, Ajuz N, Monteiro MRFP, Filho TSC. Postoperative pain after foraminal enlargement in anterior teeth with necrosis and apical periodontitis: a prospective na randomized clinical trial. JOE 2013;39(2):173-76.
61. De Deus, QD. Endodontia. 5.ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1992. 695p.
62. Siqueira JR JF. A etiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. Int Endod J. 2001;34(1):1-10.
63. Butler NP. Apical debridement – a hypothesis and preliminary report. J. Br. Endod. Soc 1970;4(4):52-6.
64. Souza Filho F, Valdrighi L, Bernardinelli N. Influência do nível da obturação e do alargamento do forame apical no processo de reparo tecidual. Revista da APCD 1996;50(2):177-77.
65. Lima TFR, Soares AJ, Souza-Filho FJ. Avaliação morfológica do forame apical após o preparo endodôntico com dois sistemas rotatórios. Rev Assoc Paul Cir Dent 2012;66(4):272-6.

ANEXO A

Aprovação do projeto científico:

- 1.** Pela Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia (CCEFO) da PUCRS (protocolo n. 0040/13).
- 2.** Pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da PUCRS (protocolo n. 13/00370).

ANEXO B

Submissão do artigo “A importância da patência foraminal e instrumentação do canal cementário no tratamento endodôntico” periódico RGO.