

AVALIAÇÃO HISTOQUÍMICA DA PERMEABILIDADE DENTINÁRIA APÓS A UTILIZAÇÃO DO EDTA COMO AUXILIAR NA IRRIGAÇÃO DO CANAL RADICULAR

HISTOCHEMICAL EVALUATION OF DENTIN PERMEABILITY AFTER USING EDTA AS AUXILIAR IRRIGATION OF THE ROOT CANAL

Márcia Maria BONETTI¹; Camila Christian Gomes MOURA¹;

Maria Antonieta Veloso Carvalho de OLIVEIRA¹; João Carlos Gabrielli BIFFI²

1. Departamento de Endodontia, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Uberlândia, MG, Brasil. antocassia@hotmail.com;

2. Professor Titular do Departamento de Endodontia, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Uberlândia, MG, Brasil.

RESUMO: O presente estudo avaliou a permeabilidade dentinária em toda a extensão do canal radicular após o uso do EDTA associado a diferentes concentrações de NaOCl. Foram utilizados cinquenta incisivos bovinos divididos em cinco grupos experimentais (n=10) de acordo com as soluções irrigantes empregadas: G1- NaOCl 1%; G2- NaOCl 5,25%; G3- NaOCl 1% + EDTA; G4- NaOCl 5,25% + EDTA; G5- Água destilada (grupo controle). Após o preparo biomecânico, as raízes foram submetidas ao método de coloração histoquímico com sulfato de cobre a 10% e ácido rubeânico a 1% para identificação da permeabilidade dentinária. Para a análise morfométrica as amostras foram seccionadas transversalmente, obtidas três secções de cada terço, desidratadas e clarificadas. Analisadas em microscopia óptica para quantificar a penetração dos íons cobre na dentina radicular. Após a análise estatística dos dados, os resultados indicaram que, houve diferença significativa entre os terços analisados seguindo uma ordem de efetividade do terço cervical maior que o médio e este maior que o apical. Entretanto, nenhuma diferença significativa em relação à permeabilidade foi encontrada quando se comparou as diferentes soluções estudadas. Concluiu-se que o uso do EDTA associado com diferentes concentrações de hipoclorito de sódio, como irrigante final, não promoveu alteração na permeabilidade dentinária no canal radicular em relação as soluções usadas isoladamente.

PALAVRAS-CHAVE: Método histoquímico. Soluções irrigantes. Tratamento do canal radicular.

INTRODUÇÃO

A ação dos instrumentos endodônticos durante a limpeza e modelagem do sistema de canais radiculares, produz restos de dentina que associados com materiais orgânicos, microorganismos e soluções irrigantes, formam a chamada smear layer (PRADO et al., 2011; VIOLICH, CHANDLER, 2010). Esta camada adere à superfície da dentina e oclui os túbulos dentinários, impedindo a penetração da medicação intracanal e dos materiais obturadores (VIOLICH, CHANDLER, 2010). Além disso, como a smear layer contém bactérias e tecido necrótico pode agir como um substrato para a multiplicação de microrganismos (DAI et al., 2011). O sucesso do tratamento endodôntico depende da erradicação dos microrganismos do sistema de canais radiculares e da prevenção da reinfecção (HAAPSAALO et al., 2010), para isso se faz necessário a remoção da camada de smear layer antes da obturação do canal radicular (DAI et al., 2011; GARIP et al., 2010; GU et al., 2009; PRADO et al., 2011; VIOLICH, CHANDLER, 2010). A remoção desta camada também aumenta a capacidade de selamento dos

cimentos endodônticos (TZANETAKIS, KAKAVETSOS, KONTAKIOTIS, 2010).

Embora várias pesquisas tenham avaliado diferentes soluções quanto a sua capacidade de remoção da smear layer (GARIP et al., 2010; SEN, ERTÜK, PISKIN, 2009; TZANETAKIS, KAKAVETSOS, KONTAKIOTIS, 2010; ZHANG et al., 2010), até o momento, nenhuma solução irrigante sozinha demonstrou ser capaz de dissolver as partes orgânica e inorgânica ao mesmo tempo. O hipoclorito de sódio (NaOCl) tem a capacidade de dissolver o tecido necrótico e os componentes orgânicos da dentina (GARIP et al., 2010; VIOLICH, CHANDLER, 2010). Entretanto, não consegue dissolver partículas inorgânicas, e por isso agentes quelantes, como o ácido Etilenodiaminotetracético (EDTA), têm sido recomendados como coadjuvantes no tratamento do canal radicular (GU et al., 2009; SEN, ERTÜK, PISKIN, 2009; VIOLICH, CHANDLER, 2010). Na prática endodôntica, o uso sequencial de um solvente orgânico (NaOCl) seguido por um solvente inorgânico (EDTA) gera canais mais limpos com menos detritos (GU et al., 2009; HAAPSAALO et al., 2010; ZHANG et al., 2010).

Recentes estudos, utilizando diferentes instrumentos mecânicos e soluções irrigantes na tentativa da remoção da smear layer, obtiveram como resultado a permanência desta no interior do canal radicular, principalmente no terço apical (DAI et al., 2011; GARIP et al., 2010; PRADO et al., 2011; TZANETAKIS, KAKAVETSOS, KONTAKIOTIS, 2010; ZHANG et al., 2010). A presença da smear layer modifica a permeabilidade da dentina radicular, o que pode refletir de forma negativa na penetração da medicação e dos cimentos endodônticos (MELLO, COIL, ANTONIAZZI, 2009; TZANETAKIS, KAKAVETSOS, KONTAKIOTIS, 2010). A despeito da existência de outros estudos avaliando a influência da smear layer na permeabilidade da dentina radicular (GUIGNES, FAURE, MAURETTE, 1996; MARCHESAN et al., 2008; MELLO, COIL, ANTONIAZZI, 2009; PASHLEY, MICHELICH, KEHL, 1981), é importante considerar as implicações do método de análise sobre os resultados encontrados.

A análise deste parâmetro pode ser realizada por diferentes metodologias como radioisótopos, método histoquímico e infiltração com corantes (GUIGNES, FAURE, MAURETTE, 1996; MARCHESAN et al., 2008; MELLO, COIL, ANTONIAZZI, 2009; PASHLEY, MICHELICH, KEHL, 1981; RIBEIRO et al., 2010). Considerando que a remoção adequada da smear layer continua sendo objeto de vários estudos, propusemos o presente estudo com objetivo de avaliar a permeabilidade dentinária em toda a extensão do canal radicular após o uso do EDTA associado a diferentes concentrações de hipoclorito de sódio, utilizando um método histoquímico.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados cinquenta dentes bovinos unirradiculares, que após a remoção de suas coroas tiveram seu comprimento radicular padronizado em 17,0 mm. Em seguida, foram secos e impermeabilizados externamente com duas camadas de cianocrilato (Super-Bonder, Loctite, Brasil Ltda).

O preparo mecânico dos terços médio e cervical das amostras foi realizado com brocas Gates Glidden nº 4, 3, e 2 (Mailleffer, Ballaigues, Suíça). Enquanto o terço apical foi instrumentado progressivamente até lima Kerr 60 (Dentsply – Malleifer, Ballaigues, Suíça) estabelecendo-se o batente apical no comprimento de 16,0 mm, a partir do qual foi realizado o escalonamento progressivo até lima Kerr 80.

A cada troca de lima, durante toda instrumentação, foi utilizado 1,0 ml de solução

irrigante de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1% ou 5,25% e irrigação final com 10,0 ml de água destilada. Vinte amostras receberam antes da irrigação final 1,0 ml de EDTA a 17% que permaneceu no canal por 5 minutos, sendo agitada pela lima memória no primeiro minuto. As raízes foram divididas em cinco grupos experimentais (n=10) de acordo com as soluções irrigantes empregadas: G1- NaOCl 1%; G2- NaOCl 5,25%; G3- NaOCl 1% + EDTA; G4- NaOCl 5,25% + EDTA; G5- Água destilada (grupo controle).

Os grupos experimentais foram submetidos a um método histoquímico (RIBEIRO et al., 2010) no qual as amostras ficaram imersas por 30 minutos em solução de sulfato de cobre a 10% e depois 30 minutos em solução alcoólica de ácido rubeânico. Nos primeiros 5 minutos da imersão em cada uma das soluções foi aplicado vácuo, com o objetivo de remover o ar contido no interior do canal radicular e aumentar o contato das soluções com as paredes dentinárias. Após cada imersão foram usadas toalhas de papel absorvente e cone de papel para remoção das soluções das partes externa e interna das raízes. O rubeanato de cobre, resultado da reação do sulfato de cobre com o ácido rubeânico, forma um pigmento que ao penetrar na dentina radicular vai da coloração do azul intenso até ao preto. Os dentes foram em frascos com algodão embebido em amônia por sete dias para fixação da pigmentação antes de serem seccionados.

Para a análise morfométrica as raízes foram seccionadas transversalmente em cortadeira de precisão (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL, USA), obtendo-se cortes de 100 a 150 micrômetros de espessura. Foram selecionadas três secções de cada terço radicular, perfazendo um total de nove secções para cada amostra. Em seguida, cada secção foi desidratada em álcool ascendente (70, 80, 96 e 100%), clarificada em xilol (3 banhos) e montada em lâmina de vidro.

A avaliação das secções transversais foi realizada de forma padronizada e por um único operador, utilizando microscópio Toolmaker (Mitutoyo Corporation, Aurora, IL, USA), em aumento de 40x. Cada corte foi avaliado seguindo-se a mesma sequência, primeiro a face vestibular, depois a lingual, a mesial e a distal (figura 1). A penetração do corante, correspondente à área pigmentada próximo à luz do canal, foi mensurada em milímetros e as medidas anotadas para posterior análise estatística. Foram obtidas quatro medidas lineares em milímetros por secção, a partir da parede do canal radicular, num total de 12 medidas por terço analisado.

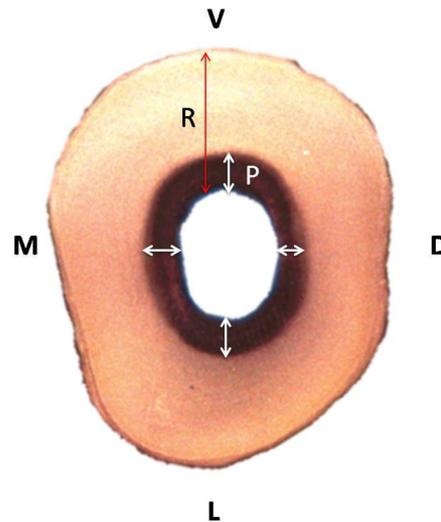


Figura 1. Medidas de pigmentação (P) do corante pela vestibular (V), lingual (L), mesial (M) e distal (D), considerando a espessura dentinária (R) de uma secção.

Os testes de Kruskal-Wallis e U de Mann-Whitney foram aplicados as medidas de pigmentação do corante, considerando as áreas cervical, média e apical e o nível de significância foi estabelecido em 0,05, em uma prova bilateral.

RESULTADOS

Os resultados das médias das medidas obtidas da penetração do corante do complexo rubeanato de cobre na dentina estão demonstrados na Tabela 1.

Quando foram comparadas as infiltrações do corante, considerando-se as áreas cervical, média e apical dos grupos experimentais, foram encontradas diferenças estatisticamente significantes nas amostras dos grupos G2, G3, G4, e G5 (Tabela 2). Sendo que, nestes grupos os maiores valores de penetração ocorreram no terço cervical, seguido pelo terço médio (Tabela 3). Quando foi comparada a infiltração total do corante ao longo da dentina radicular entre os grupos experimentais, considerando as áreas radiculares duas a duas, não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes (Tabela 4).

Tabela 1. Médias das medidas (mm) obtidas das áreas pigmentadas de cada terço radicular.

Terço radicular	NaOCl 1% (G1)	NaOCl 5,25% (G2)	NaOCl 1% + EDTA (G3)	NaOCl 5,25% + EDTA (G4)	Água destilada (G5)
cervical	0,45	0,56	0,59	0,45	0,38
médio	0,34	0,30	0,30	0,22	0,21
apical	0,19	0,19	0,19	0,07	0,06

Tabela 2. Probabilidades encontradas quando comparadas as áreas cervical, média e apical entre si dentro de cada grupo experimental.

Variáveis analisadas	Probabilidades
NaOCl 1%	0,095
NaOCl 5,25 %	0,003*
NaOCl 1% + EDTA	0,003*
NaOCl 5,25% + EDTA	0,001*
Água destilada	0,002*

p < 0,05

Tabela 3. Probabilidades encontradas quando comparadas as áreas radiculares, duas a duas, dos grupos G2, G3, G4 e G5.

Variáveis analisadas	NaOCl 5,25%	NaOCl EDTA	1%	NaOCl EDTA	5,25%	Água destilada
cervical x média	0,021*	0,031*		0,019*		0,064
cervical x apical	0,002*	0,001*		0,001*		0,001*
média x apical	0,150	0,082		0,037		0,050

* p< 0,05

Tabela 4. Probabilidades encontradas quando comparadas as áreas radiculares, duas a duas, entre os grupos experimentais.

Variáveis analisadas	Probabilidades
cervical x média	0,510
cervical x apical	0,454
média x apical	0,168

* p< 0,05

DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo não apontam relação entre o uso do EDTA após diferentes concentrações de NaOCl e o aumento da permeabilidade dentinária. Resultados semelhantes foram observados por Mello, Coil e Antoniazzi (2009) que observaram não haver diferença na permeabilidade da dentina radicular quando compararam a irrigação final com NaOCl 1%, EDTA 17%, EDTAT 17% e Biopure MTAD. O aumento da permeabilidade não depende da remoção da smear layer, mas sua remoção é diferente em relação as soluções avaliadas, quando observadas por meio de infiltração de corantes ou por microscopia eletrônica de varredura (MELLO, COIL, ANTONIAZZI, 2009). Estudos anteriores encontraram dependência entre as alterações da permeabilidade dentinária e a remoção da smear layer (GUIGNES, FAURE, MAURETTE, 1996; PASHLEY, MICHELICH, KEHL, 1981). Marchesan et al. (2008) utilizando a mesma metodologia de avaliação empregada em nossa pesquisa, encontraram diferenças na permeabilidade da dentina radicular quando associaram diferentes soluções irrigantes ao uso do laser 980-nm. A permeabilidade dentinária após a irradiação com laser foi diretamente dependente da solução usada como irrigação final.

O método histoquímico utilizado, foi proposto por Pécora et al. (1987) para detectar a permeabilidade da dentina por causa de sua alta reprodutibilidade, do menor tamanho molecular dos íons de cobre em comparação com corantes orgânicos, e da insolubilidade do cobre em xilol permitindo a clarificação da dentina sem perder a coloração (MARCHESAN et al., 2008; RIBEIRO et

al., 2010). Desde a publicação do estudo de Pashley e Livingston (1978), sabe-se que o tamanho da molécula é fundamental ao detectar a permeabilidade da dentina. Estes autores relataram que um aumento de 19 vezes no tamanho da molécula diminuiria a permeabilidade em 100 vezes. Esse método histoquímico associado a análise morfométrica permitiu a obtenção de valores absolutos, os quais puderem ser avaliados quantitativamente.

O uso de quatro medidas lineares por secção, a partir da parede do canal radicular, num total de 12 medidas por terço analisado, minimizou o problema das soluções irrigantes não agirem de maneira homogênea no interior de todo o canal radicular. Como os instrumentos mecânicos não conseguem agir de forma homogênea, nem todas as paredes do canal radicular estão completamente limpas para que possam sofrer a ação direta das soluções irrigantes (DAI et al., 2011).

A maior penetração do corante na região cervical foi semelhante aos resultados encontrados em outros estudos (MARCHESAN et al., 2008; MELLO, COIL, ANTONIAZZI, 2009) e se deve tanto ao maior número (LUI, KUAB, CHEN, 2007) e maior diâmetro dos túbulos dentinários (GUIGNES, FAURE, MAURETTE, 1996) quanto a possibilidade de uma instrumentação mais efetiva (LUI, KUAB, CHEN, 2007). O melhor acesso nesta região facilitou a ação do hipoclorito e do EDTA. Quanto maior a proximidade com ápice, menor a diferença observada quanto à permeabilidade, o que pode ter sido resultado do volume da solução irrigante ou da penetração da agulha inadequados para a irrigação efetiva do terço apical (SEN, ERTÜK, PISKIN, 2009). Segundo Sen, Ertük e Piskin (2009) haveria maior efetividade na remoção

da smear layer na região apical, se a agulha de irrigação fosse colocada mais próxima do comprimento de trabalho, entretanto aumentaria também a possibilidade de extrusão das substâncias irrigantes nos tecidos periapicais.

Portanto a ação das soluções irrigantes fica dependente da limpeza mecânica promovida pelas limas, muitas vezes limitada pelas irregularidades naturais das paredes do canal radicular (LUI, KUAB, CHEN, 2007), o que poderia influenciar nas variações da permeabilidade encontradas. Tal fato pôde ser comprovado pela diferença estatisticamente significativa observada no grupo controle (água destilada) quando se comparou a região cervical e a apical, com favorecimento para a cervical.

Considerando que até o momento nenhuma substância é capaz de remover de forma efetiva a

smear layer do interior do canal radicular, acreditamos que o sucesso do tratamento endodôntico depende principalmente do preparo mecânico.

CONCLUSÕES

O método histoquímico utilizado permitiu a quantificação da permeabilidade dentinária promovida pelas soluções avaliadas; houve diferenças significativas da permeabilidade entre os terços radiculares sendo que o terço cervical apresentou a maior penetração do corante.

O uso do EDTA associado com diferentes concentrações de hipoclorito de sódio, como irrigante final, não promoveu alteração na permeabilidade dentinária no canal radicular em relação as soluções usadas isoladamente.

ABSTRACT: This study evaluated the dentine permeability on the length of the root canal after the use of EDTA associated with different concentrations of NaOCl. Fifty bovine incisors were used divided into five experimental groups (n = 10) according to the irrigating solutions used: G1- 1% NaOCl; G2- 5.25% NaOCl; G3- 1% NaOCl + EDTA; G4- 5.25% NaOCl + EDTA; G5- distilled water (control group). After biomechanical preparation, the roots were subjected to histochemical staining method with 10% copper sulfate and then in 1% rubeanic acid alcohol solution for identification of dentin permeability. For the morphometric analysis the samples were cross sectioned, obtained three sections of each third, dehydrated and clarified. Analyzed with light microscopy to quantify the penetration of copper ions in the root dentin. After statistical analysis, the results indicated that there were significant differences among thirds analyzed by an order of effectiveness of the cervical third larger than the middle and this larger than the apical. However, no significant difference in relation to the permeability was found when comparing the different solutions studied. In conclusion, the use of EDTA associated with different concentrations of sodium hypochlorite, as final rinse, did not cause changes in dentin permeability in relation solutions used alone.

KEYWORDS: Histochemical method. Irrigating solutions. Root canal therapy.

REFERÊNCIAS

- DAI, L.; KHECHEN, K.; KHAN, S.; GILLEN, B.; LOUSHINE, B.A.; WIMMER, C.E.; GUTMANN, J.L.; PASHLEY, D.; TAY, F.R. The effect of QMix an experimental antibacterial root canal irrigant, on removal of canal wall smear layer and debris. **J. Endod.**, Baltimore, v. 37, n. 1, p. 80-84, 2011.
- GARIP, Y.; SAZAK, H.; GUNDAY, M.; HATIPOGLU, S. Evaluation of smear layer removal after use of a canal brush: an SEM study. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 110, n. 2, p. e62-e66, 2010.
- GUIGNES, P.; FAURE, J., MAURETTE, A. Relationship between endodontic preparations and human dentin permeability measured in situ. **J. Endod.**, Baltimore, v. 22, n. 2, p. 60-67, 1996.
- GU, L.S.; KIM, J.R.; LING, J.; CHOI, K.K.; PASHLEY, D.H.; TAY, F.R. Review of contemporary irrigant agitation techniques and devices. **J. Endod.**, Baltimore, v. 35, n. 6, p. 791-804, 2009.
- HAAPASALO, M.; SHEN, Y.; QIAN, W.; GAO, Y. Irrigation in Endodontics. **Dent. Clin. N. Am.**, Philadelphia, v. 54, n. 2, p. 291-312, 2010.
- LUI, J.N.; KUAB, H.G., CHEN, N.N. Effect of EDTA with and without surfactants or ultrasonics on removal of smear layer. **J. Endod.**, Baltimore, v. 33, n. 4, p. 472-475, 2007.

- MARCHESAN, M.A.; BRUGNERA JUNIOR, A.; OZORIO, J.E.; PECORA, J.D.; SOUSA-NETO, M.D. Effect of 980-Nanometer Diode Laser on root canal permeability after dentin treatment with different chemical solutions. **J. Endod.**, Baltimore, v. 34, n. 6, p. 721-724, 2008.
- MELLO, I.; COIL, J.; ANTONIAZZI, J.H. Does a final rinse to remove smear layer interfere on dentin permeability of root canals? **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 107; n. 4, p. e47-e51, 2009.
- PASHLEY, D.H.; LIVINGSTON, M.J. Effect of molecular size on permeability coefficients in human dentin. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v. 23, n. 5, p. 391-395, 1978.
- PASHLEY, D.H.; MICHELICH, V.; KEHL, T. Dentin permeability: effects of smear layer removal. **J. Prosth. Dent.**, St. Louis, v. 46; n. 5, p. 531-537, 1981.
- PÉCOR, D.J.; COSTA, W.F.; CAMPOS, G.M.; ROSELINO, R.B. Presentation of a histoquimical method for the study of root dentine permeability. **Rev. Odont. USP.**, Araraquara, v.1, n.2, p.3-9, 1987.
- PRADO, M.; GUSMAN, H.; GOMES, B.P.F.A.; SIMÃO, R.A. Scanning Electron Microscopic investigation of the effectiveness of phosphoric acid in smear layer removal when compared with EDTA and citric acid. **J. Endod.**, Baltimore, n. 37, n. 2, p. 255-258, 2011.
- RIBEIRO, R.G.; MARCHESAN, M.A.; SILVA, R.G.; SOUSA-NETO, M.D.; PÉCOR, J.D. Dentin permeability of the apical third in different groups of teeth. **Braz. Dent. J.**, Ribeirão Preto, v. 21, n. 3, p. 216-219, 2010.
- SEN, B.H.; ERTÜK, O.; PISKIN, B. The effect of different concentrations of EDTA on instrumented root canal walls. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v.108, n. 4, p. 622-627, 2009.
- TZANETAKIS, G.N.; KAKAVETSOS, V.D.; KONTAKIOTIS, E.G. Impact of smear layer on sealing property of root canal obturation using 3 different techniques and sealers. Part I. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 109, n. 2, p. e145-e153, 2010.
- VIOLICH, D.R.; CHANDLER, N.P. The smear layer in endodontics – a review. **Int. Endod. J.**, Oxford, n. 43, n. 1, p. 2-15, 2010.
- ZHANG, K.; KIM Y.K.; CADENARO, M.; BRYAN, T.E.; SIDOW, S.J.; LOUSHINE, S.J.; LING, J.; PASHLEY, D.H.; TAY, F.R. Effects of different exposure times and concentrations of sodium hypochlorite/ethylenediaminetetraacetic acid on the structural integrity of mineralized dentin. **J. Endod.**, Baltimore, v. 36, n. 1, p. 105-109, 2010.