

3

Revisão da Literatura

1.1.Considerações Iniciais

A remoção do *smear layer* formado durante a terapia endodôntica acarreta um aumento da permeabilidade dentinária (Pashley *et al.*, 1981). Esse mecanismo, assim como suas conseqüências, vem sendo alvo de vasta pesquisa e discussão científica. A influência do aumento da permeabilidade na desinfecção das camadas dentinárias profundas é relatada na literatura (Orstavik & Haapasalo 1990) e diversos estudos *in vitro* vêm ressaltando sua importância na melhora da adaptação e da adesão dos materiais obturadores às paredes dentinárias. O aumento da permeabilidade pode influenciar no grau de percolação da obturação final (Cergneux *et al.*, 1987, Wennberg & Orstavick, 1990).

Nesse contexto, os agentes quelantes e suas associações assumem um papel de destaque na pesquisa sobre o grau de eficácia da capacidade quelante.

1.2.Substâncias Quelantes

1.2.1.EDTA

Durante a década de 30, a empresa alemã I. G. Farbenindustrie patenteou, sob o nome comercial de triton B, um ácido poliaminocarboxílico capaz de formar complexos estáveis com diversos íons metálicos, inclusive os alcalino terrosos (família de elementos químicos que inclui, dentre outros, o cálcio). Este agente quelante, cujo nome sistemático é ácido etilenodiamino tetracético (EDTA), mostrou-se muito útil na titulação de substâncias que continham metais em sua composição (Flaschka, 1967).

Nikiforuk & Sreebny (1953) descreveram um novo método de desmineralização de tecidos calcificados em pH neutro. O agente de desmineralização era um quelante orgânico – o sal dissódico do EDTA. Uma solução de sal dissódico do EDTA, neutralizado pelo ácido clorídrico, numa concentração de 0.5M, em temperatura ambiente, provocava uma desmineralização média para espécimes pequenos de tecido ósseo, sendo que em temperaturas altas aumentava a velocidade de desmineralização.

Hunter & Nikiforuk (1954) observaram o efeito do uso de agentes quelantes e usando soluções aciduladas seguidas do uso dos corantes hematoxilina e eosina, concluíram que o EDTA é um descalcificante satisfatório.

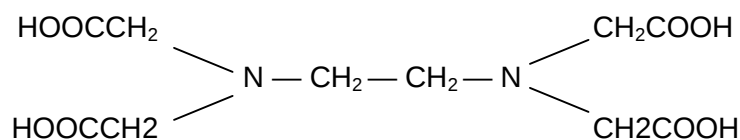
Pioneiramente, Østby (1957), embasado nos trabalhos de Nikiforuk & Sreebny (1953) e de Jussila & Photo (1954), vislumbrou o emprego da solução de EDTA sob a forma de um sal dissódico como auxiliar na instrumentação de canais calcificados e atresiadados, devido a sua capacidade de promover a quelação dos íons cálcio a um pH próximo ao neutro. Este trabalho teve grande impacto na Endodontia, pois o EDTA substituiu com enorme vantagem os ácidos fortes, propostos anteriormente por autores como Callahan (1894).

O EDTA é menos irritante aos tecidos perradiculares, não promove corrosão dos instrumentos e tem ação rápida e autolimitante (Østby, 1957). A solução sugerida por Østby (1957) possui a seguinte formulação:

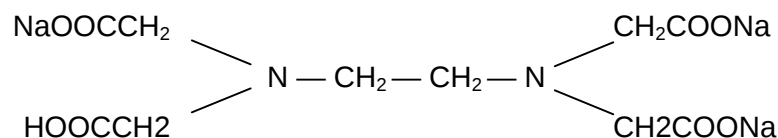
Hidróxido de Cálcio 5N.....	9,25ml
Sal Dissódico de EDTA.....	17g
Água destilada.....	100ml (pH ~ 7,3)

O EDTA, na sua forma de ácido, apresenta um pequeno poder de descalcificação, porque sua solubilidade em água é pequena (0,001mol/litro). Consequentemente, seu poder quelante é reduzido, pela impossibilidade de uma efetiva dissociação iônica (Berbert *et al.*, 1980; Calvo *et al.*, 1989). A solubilidade do EDTA está diretamente relacionada com o número de átomos de hidrogênio dos radicais carboxila, substituídos por sódio. Como apresenta quatro radicais carboxila, pode-se obter quatro tipos de sais: mono, di, tri e tetrassódico (Berbert *et al.*, 1980; Holland *et al.*, 1979).

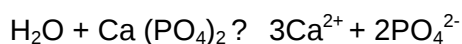
O EDTA apresenta a seguinte fórmula estrutural:



Levando-se em consideração a capacidade de descalcificação e a compatibilidade biológica das soluções de EDTA, em relação aos tecidos pulpares e perradiculares, empregamos o sal trissódico, que apresenta a seguinte formulação:



A reação inicial da solução de EDTA no interior do canal radicular é representada por uma pequena solubilização de fosfato de cálcio, componente mineral da dentina, até que seja estabelecido o equilíbrio, que é representado pela reação:



O EDTA incorpora o cálcio por meio das ligações bivalentes do oxigênio existente em sua estrutura, fechando-o numa cadeia heterocíclica. Esta reação é uma reação do tipo quelação, sendo o quelato de cálcio o produto resultante.



Desta maneira, ocorre uma quebra constante da solubilidade dentinária, que volta a se solubilizar na tentativa de suprir a falta de íons cálcio. Esses íons são incorporados às moléculas de EDTA e a reação química continua até a saturação da solução quelante, que interrompe o processo (Lopes & Siqueira, 1999). Assim fica explicada a ação autolimitante das soluções de EDTA, pois uma molécula quela um mol de íon metálico (Dow, 1984; Østby, 1957; Seidberg & Schilder, 1974).

A extensão da desmineralização do sal dissódico do EDTA foi pioneiramente analisada por Fehr & Østby (1963) através de microscopia de luz polarizada. Em uma aplicação de 5 minutos sobre a dentina humana 20 a 30 µm de dentina eram desmineralizados.

Patterson (1963), em ampla pesquisa com EDTA, chegou a várias conclusões:

1. A dureza da dentina humana varia de 25 a 80 na escala de Knoop, de acordo com sua localização. Ao nível da junção cementodentinária e nas proximidades da superfície do canal radicular é mais amolecida;
2. Quando submetida a ação do EDTA, a dureza máxima determinada foi 1,6 na escala de Knnop;
3. O EDTA ofereceu aproximadamente o mesmo efeito do ácido fenolsulfônico sobre a dentina;

4. Em diluições de 10, 3, 0,3, 0,1 e 0,03%, o EDTA mostrou-se ativo, embora seu maior efeito tenha sido observado na mais alta concentração testada;
5. Quando o EDTA foi deixado no canal radicular por 24hs, a dentina superficial sofreu descalcificação. Esse efeito, porém não foi autolimitante, mas contínuo por 5 dias. A profundidade máxima de ação no 5º dia foi de 0,28 mm;
6. A porção de dentina não atingida pela solução manteve sua dureza;
7. A solução de EDTA a 10% produziu uma zona de inibição bacteriana, comparada com a produzida pelo cresoto de Faia.

Dois anos mais tarde, Weinreb & Meier (1965) estudaram a eficiência das soluções de EDTA em relação ao tempo de aplicação. Os autores concluíram que o uso de 5 aplicações de 3 minutos foi mais eficaz que uma aplicação única de 15 minutos consecutivos e que a agitação mecânica produzida pelos instrumentos endodônticos aumentou a eficiência do processo de quelação em duas vezes e meia. Portanto, os autores recomendam a aplicação do EDTA por 2 minutos, seguido do emprego de um instrumento na agitação da solução por mais 1 minuto.

A forma trissódica da solução de EDTA (Na_3EDTA) possui elevada capacidade quelante (Reilly 1958). O EDTA verdadeiro, por ser tetracético, contém quatro átomos de H^+ e por isso seu pH fica em torno 4. Se a forma tetracética reage com uma base forte de soda ou potassa cáustica, pode-se obter um sal ácido monossódico (pH=4.5), dissódico (pH=5.5), trissódico (pH=9.3) ou tetrassódico (pH=11.3). Somente em pH em torno de 10 é que a maior parte do quelante em solução aquosa estará na forma totalmente dissociada. Deste modo, a medida que o pH diminui, aumentará a protonação do quelante e conseqüentemente diminuirá a capacidade de quelação. Visto que o objetivo do presente estudo é verificar a capacidade quelante, é justificável a utilização do EDTA na sua forma trissódica em pH entre 8 e 10, que é o ponto máximo de quelação produzido por este sal (Baccan *et al.*, 1985; Dautel-Morazin, 1991). A influência do pH na capacidade quelante é também confirmada por Cury *et al.* (1981)

Weinreb & Méier (1965) testaram a eficiência do EDTA, ácido sulfúrico e instrumentos mecânicos, em várias combinações, no alargamento de canais radiculares. Quando usado isoladamente, o método mecânico se mostrou mais eficiente, seguido pelo EDTA, que foi de quatro a cinco vezes mais eficiente que o ácido sulfúrico. Quando o trabalho mecânico e as soluções químicas foram

combinados, o EDTA mostrou-se novamente muito mais eficiente. Por isso, o uso de EDTA na prática clínica foi recomendado pelos autores.

Stewart *et al.* (1969) concluíram que a combinação EDTA–peróxido de uréia permite que a medicação penetre nos túbulos mais completamente e destrua os microrganismos. A combinação altera a superfície do canal e permite completa penetração da substância corante.

Cohen *et al.* (1970) estudaram os efeitos dos ácidos, álcalis e agentes quelantes na permeabilidade dentinária. Dentre as substâncias empregadas nesse estudo estão:

- 1) o hipoclorito de sódio a 5,0%;
- 2) hipoclorito de sódio a 5,0% e peróxido de hidrogênio a 3,0%;
- 3) peróxido de uréia com base em glicerina anidro (Gly-oxide®) e hipoclorito de sódio a 5,0%;
- 4) EDTA com 10% de peróxido de uréia (RC-prep) e hipoclorito de sódio a 5,0%;
- 5) cloridro zephiran 1:1.000.

Cohen concluiu que soluções alternadas de RC-prep com hipoclorito de sódio 5,0%, aumentavam significativamente a permeabilidade dos túbulos dentinários nos terços médio e apical da raiz.

Andrade (1971) comparou o EDTA seguindo a sua fórmula, a de ØSTBY e a de Stewart. Devido às reações químicas do peridrol e da uréia (ambos anticloro), com o hipoclorito de sódio (soda clorada), o autor desaconselha o uso desse produto e sugere o uso do ácido EDTA (pH sempre ácido), reagindo no interior do canal com a soda clorada, pois forma além do sal EDTA, grande quantidade de cloro e oxigênio, com poder bactericida e de dissolução dos restos pulpares, além de desobstrução dos canais atresiadados e calcificados.

Baker *et al.* (1975) pesquisaram alguns agentes utilizados na irrigação: soro fisiológico, água oxigenada, hipoclorito de sódio, EDTA e EDTA com hipoclorito de sódio. Foi avaliada a eficácia dos agentes irrigantes na remoção de debris e microrganismos. Houve semelhança em todas as soluções utilizadas na aparência final das paredes dos canais e, também, significativa perda no grau de limpeza quando não foi utilizada nenhuma solução irrigadora.

Barbosa (1976) estudou o grau de penetração no interior dos canais radiculares de dentes humanos permanentes, tendo sido empregados três produtos comerciais com base de EDTA (EDTA trissódico associado tergentol, EDTA da marca Hércules e EDTA da marca Ultra Duradent). O azul de metileno, em solução a 2,0% foi incorporado ao quelante para ajudar a visualização. Após manipulação dos canais

radiculares, o EDTA da marca Ultra Duradent apresentou maior grau de penetração que as demais soluções estudadas.

Fraser & Laws (1976) fizeram experimentos utilizando-se de três agentes quelantes: Decai, Largal ultra e RC-prep. Concluíram que os três agentes quelantes reduziram significativamente a penetração de corantes no interior da dentina, mas não houve diferença entre os agentes nessa redução de penetração.

Karagoz-Kuçükay & Bayirll (1978) demonstraram a importância da remoção do *smear layer* através da diminuição de infiltração de corantes por uma técnica eletroquímica. Para isto utilizou-se uma solução de EDTA a 20% em pH 8.5 como irrigação final, seguida de hipoclorito de sódio a 5,25%.

Mader, Baumgartner & Peters (1984) usaram microscopia eletrônica de varredura para investigar o *smear layer* formado durante a terapia endodôntica. Os autores encontraram *smear layer* aderido a paredes dentinárias, assim como, dentro dos túbulos dentinários. Essa camada freqüentemente apresentava de 1 a 2 µm de espessura e, quando aderida dentro dos túbulos dentinários, podia chegar a 40 µm de profundidade.

Lindemann *et al.* (1985) concluíram que o EDTA não parece ser tóxico à polpa quando aplicado sobre a dentina intacta, pois não se difunde bem através desse tecido. No entanto, deve-se ter cautela nas aplicações do EDTA em dentes com suspeita de exposição pulpar.

Pécora (1985) propôs um trabalho com método fundamentado na complexação iônica do cobre com o ácido rubeânico. Por se tratar de reações químicas que se processam no interior do tecido dental pode-se admitir que se trata de uma reação histoquímica. Além do controle, foram utilizadas soluções experimentais a saber: solução de Dakin, hipoclorito de sódio a 1,0% (Milton), hipoclorito de sódio a 5,0%, hipoclorito de sódio a 5,0% alternado com água oxigenada a 3,0%, RC-prep® mais hipoclorito de sódio a 5,0%, Endo PTC neutralizado com a solução de Dakin, EDTA, ácido cítrico a 10,0%, Tergentol associado ao Furacin. A rigor, as soluções de hipoclorito de sódio a 5,0%, Dakin, hipoclorito de sódio a 1,0% (Milton) e EDTA promoveram maior ação sobre a dentina radicular. Quanto aos níveis das regiões do canal radicular, para todas as soluções estudadas, a região cervical apresentou maior penetração do complexo rubeanato de cobre.

Baumgartner & Mader (1987) usaram a microscopia eletrônica de varredura para analisar a capacidade de debridamento de quatro protocolos de irrigação e concluíram que o uso de NaOCl associado ao EDTA foi capaz de remover completamente o *smear layer* aderido às paredes dentinárias instrumentadas.

Guimarães *et al.* (1988) estudaram a tensão superficial de várias soluções auxiliares de instrumentação de canais radiculares por meio do método da ascensão capilar. O lauril sulfato de sódio a 0,1% apresentou a mais baixa tensão superficial das soluções estudadas. A associação de tensoativos ao EDTA reduz sensivelmente sua tensão superficial, fazendo com que a solução atue em áreas menos acessíveis.

Cengiz *et al.* (1990) observaram que a orientação dos túbulos dentinários não tem efeito na remoção e formação do magma dentinário. Irrigação com EDTA e hipoclorito de sódio a 5,25% associados removeram mais efetivamente o magma dentinário do que a solução de EDTA. O soro fisiológico não apresentou efeito algum na remoção do magma dentinário.

Saquy (1991) utilizou-se de três métodos para estudar o efeito quelante de uma solução de EDTA, associada ou não a uma solução de hipoclorito de sódio a 0,5%. O primeiro método destinava-se a evidenciar a quelação de íons metálicos (Ni), em papel de filtro, por meio de uma solução alcoólica de dimetilglioxima, formando o complexo dimetilglioximato de níquel 11, que apresenta a cor vermelha. O segundo método visava determinar a concentração de cálcio complexado pelo EDTA na dentina. Após a obtenção do pó de dentina, este é colocado em contato com as soluções de EDTA e de líquido de Dakin mais EDTA, fazendo-se então a leitura da concentração de cálcio em um espectrofotômetro de chama. O terceiro método tinha por fim a avaliação da microdureza da dentina, após a ação das soluções de EDTA e EDTA mais líquido de Dakin. Após a obtenção dos cortes de dentina, estes eram submetidos à ação das soluções testadas, em tempos previamente estabelecidos. A seguir, esses cortes eram levados ao aparelho de dureza Vickers, para determinar as medidas da dureza dentinária. Os resultados permitiram concluir que: 1) tanto a solução de EDTA, como a associação com a solução de Dakin são capazes de quelar íons metálicos; 2) a solução de EDTA e a associação são capazes de quelar íons cálcio; 3) a solução aquosa de EDTA e a associação de EDTA com a solução de Dakin atuam sobre a dentina, diminuindo igualmente sua microdureza; 4) a ação quelante do EDTA não é desativada pela sua associação com a solução de Dakin.

Tao *et al.* (1991) estudaram os efeitos dos procedimentos endodônticos na permeabilidade da dentina radicular *in vitro*. Os resultados mostraram que o tratamento com EDTA na instrumentação do canal para remover o *smear layer* não aumentou a permeabilidade significativamente.

Tewfik *et al.* (1993) concluíram que, quando o EDTA e o hipoclorito de sódio são usados para remover a *smear layer*, eles apenas removem a porção superficial, deixando "smear plugs" residuais (1 a 5 µm de profundidade).

Garberoglio & Becce (1994) analisaram o efeito de seis irrigantes endodônticos na remoção da *smear layer*. Hipoclorito de sódio a 1,0 e 5,0%; uma combinação de ácido fosfórico a 24% e ácido cítrico a 10%; e EDTA a 0,2, 3 e 17%. As duas soluções de hipoclorito de sódio não removeram o *smear layer*, mesmo quando o hipoclorito a 5,0% foi esfregado nas paredes dentinárias. O ácido etilenodiaminotetracético a 0,2% em solução foi mais efetivo que o hipoclorito de sódio, mas não removeu completamente a *smear layer*, especialmente nos orifícios dos túbulos dentinários. As outras três soluções efetivamente removeram o *smear layer*, mas não foi encontrada diferença significativa entre elas. A solução de EDTA a 3,0% foi tão efetiva quanto o ácido fosfórico e EDTA a 17%. O EDTA, entretanto não mostrou a marca do efeito da desmineralização nas paredes dentinárias e túbulos como as soluções ácidas.

Mallmann *et al.* (1995) realizaram um estudo sobre o *smear layer* e concluíram que a sua remoção contribui para o sucesso dos procedimentos de desinfecção e obturação do canal radicular. Para esse fim, uma das alternativas seria o uso de 10ml de EDTA a 15%, que desmineraliza as partículas de dentina e expõe o colágeno, seguido por 10ml de hipoclorito de sódio a 5,0%, que atua removendo o material orgânico, inclusive o colágeno da matriz.

Braguetto *et al.* (1997) pesquisaram a capacidade de limpeza promovida pela solução de Dakin, pela solução de EDTA, pela mistura das soluções de Dakin e EDTA na proporção de 1:1 e pelo uso alternado da solução de Dakin com a solução de EDTA, quando utilizados na instrumentação dos canais radiculares. Os resultados submetidos à análise estatística evidenciaram que o uso da solução de Dakin quer misturada, quer alternada com solução de EDTA, promove canais mais limpos, ou seja, com menor porcentagem de detritos do que o uso das demais soluções utilizadas isoladamente.

Souza *et al.* (1999) enfatizam a importância da utilização dos agentes quelantes, especificamente o EDTA, na prática endodôntica e fazem uma revisão de literatura sobre quelantes, seu modo de ação e indicações.

Hottel, El-Refai & Jones (1999) comparam, por microscopia eletrônica de varredura, o efeito quelante do Succimer®, do Trientine HCl e do EDTA e concluíram que a solução Succimer® foi mais eficaz na remoção do *smear layer*.

De Deus *et al.* (2000) estudaram a influencia da técnica de instrumentação na formação do *smear layer* e debris através de microscopia eletrônica de varredura. Os autores concluíram que:

1. Em todas as amostras o terço apical não apresentou uma limpeza satisfatória;

2. As técnicas que alargam mais os terços médio e cervical tendem a promover uma melhor limpeza de debris suspensos nas paredes dentinárias;
3. A remoção de debris é promovida por estímulos mecânicos enquanto que a remoção do *smear layer* encontra-se relacionada a um fator químico;

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

Sen *et al.* (2000) estudaram os efeitos da solução de EDTA sobre *Cândida albicans* e concluíram que esta substância possui alta capacidade de combate à infecção fúngica.

Souza & Silva (2001) estudaram a interferência da camada residual, ou *smear layer*, no selamento apical das obturações dos canais radiculares. Concluíram que a remoção da camada residual deve ser efetuada, pois interfere no selamento das obturações.

Serper & Çalt (2002) compararam os efeitos das variações da concentração e do pH das soluções de EDTA na desmineralização da dentina. Vinte dentes humanos unirradiculares extraídos foram usados no experimento. Os efeitos das soluções de EDTA a 10% e a 17% com pH de 7,5 e 9 na desmineralização da dentina foram determinados pela quantidade de fósforo liberado após 1, 2, 3, 5 e 10 minutos de ação. Os resultados revelaram que a solução mais concentrada de EDTA foi efetiva na liberação de fósforo. O tempo de exposição, assim como o pH neutro da solução de EDTA influenciaram positivamente na capacidade de desmineralização da dentina.

Çalt & Serper (2002) avaliaram os efeitos do tempo de aplicação do EDTA na dentina humana, através de microscopia eletrônica de varredura. Os autores concluíram que, quando aplicado por 1 minuto o EDTA foi eficaz na remoção do *smear layer*. Porém quando aplicado por 10 minutos o EDTA promoveu excessiva erosão da dentina peritubular e intertubular.

1.2.2. EDTA e suas associações

O fato da solução de EDTA agir somente por contato direto com o substrato levou Hill a adicionar um composto amônico quaternário denominado comercialmente

de Cetavlon[®] (Hill, 1959). De fato, a associação do EDTA com compostos como o Cetavlon[®] aumenta a capacidade bactericida da solução sem anular seu efeito quelante (Goldberg & Abramovich, 1977). A solução aquosa de EDTA apresenta uma tensão superficial de 69,23 d/cm². A adição do Cetavlon[®] reduz este valor para 33,92 d/cm² ($\pm 50\%$) (Reilly & Schimed, 1958). Essa substância é conhecida como EDTAC. O EDTAC agindo na dentina radicular produz uma superfície limpa e com os túbulos dentinários patententes (Goldberg & Abramovich, 1977).

Weine *et al.* (1972) concluíram que o EDTA permanece ativo no canal radicular por cinco dias se não for inativado. As soluções de EDTA, como as soluções de EDTAC são tóxicas se entrarem em contato com os tecidos periapicais. Por isso, devem sempre ser inativadas com o hipoclorito de sódio.

McComb & Smith (1975) utilizaram várias substâncias irrigadoras como tratamento químico. A mais efetiva limpeza foi obtida com o uso do REDTA (EDTA + Cetramide[®]) selado no canal por 24 horas. Canais tratados dessa maneira ficaram livres de *smear layer* e debris superficiais.

Grossman (1976) usou soluções de EDTA sob a forma de EDTAC em canais estreitos ou curvos e deduziu que estes são um excelente coadjuvante na dilatação do canal radicular. A probabilidade de irritação do tecido periapical é bem menor quando comparada com as soluções ácidas, e a solução não precisa ser neutralizada, pois é levemente alcalina.

Goldberg & Abramovich (1977) relataram a ação promovida com o EDTAC na parede dentinária observada pelo microscópio eletrônico de varredura. Após tratamento com EDTAC, as paredes dentinárias mostraram uma superfície limpa e o diâmetro de abertura dos túbulos apareceu maior do que nas secções não tratadas.

Kaufman *et al.* (1978) compararam o salvizol[®] (quelante aniônico) ao EDTAC como quelante e solução irrigadora. O salvizol[®] remove material orgânico da matriz dentinária, possui excelente capacidade de limpeza e é eficiente no terço apical, enquanto o EDTAC fracassou. Os autores concluíram que as qualidades do Salvizol[®] juntamente com a pouca propriedade irritante, baixa toxicidade, largo espectro bactericida e fungicida, o fazem um quelante ideal para a endodontia. No entanto, não há outros indícios na literatura da qualidade do Salvizol[®] descrita por estes autores.

Goldman *et al.* (1981) testaram três soluções irrigadoras: TEGO (dudecildiaminetilglicina a 1,0%), hipoclorito de sódio a 5,25% e REDTA. Os grupos foram inundados pelas soluções por três horas e então examinados. O REDTA removeu a *smear layer*, mas não removeu tecido mole. Todas as soluções produziram um canal livre de debris, entretanto nenhuma solução foi individualmente satisfatória.

Golberg *et al.* (1982) analisaram o efeito do EDTAC no selamento apical através de culturas e microscopia eletrônica de varredura e concluíram que o uso da substância quelante não influenciou na qualidade do selamento apical.

Goldman *et al.* (1982) pesquisaram a eficácia de várias soluções irrigadoras endodônticas. Dentes extraídos foram alargados e limados usando ora REDTA, ora hipoclorito de sódio a 5,25%, durante todo o preparo biomecânico e receberam uma irrigação final com REDTA ou hipoclorito de sódio a 5,25% separadamente, ou combinados. Os resultados indicaram que o hipoclorito de sódio utilizado durante a instrumentação foi muito mais efetivo que o REDTA. Quando as duas soluções foram utilizadas na irrigação final, a mais eficaz foi o REDTA seguido do hipoclorito de sódio a 5,25%.

Cymerman *et al.* (1983) mostraram que dentes em cujos canais uma preparação REDTA foi utilizada por 24 horas, resultaram em paredes limpas e livres de *smear layer* e debris superficiais.

Madison & Krell (1984) estudaram o efeito de agentes quelantes no selamento apical de dentes tratados endodonticamente. Usaram irrigação com hipoclorito de sódio isoladamente, ou uma combinação de REDTA com hipoclorito de sódio. A infiltração apical foi avaliada com auxílio de um corante. Os resultados demonstraram não haver diferenças significativas na penetração do corante entre os grupos, independentemente da solução irrigante utilizada.

Fava (1985) revisou profundamente a literatura sobre *smear layer* e, pela análise dos trabalhos constantes na literatura, compreende-se que a remoção da camada de *smear layer* pode ser alcançada com o emprego de irrigação com determinadas substâncias químicas como os agentes quelantes, associados ou não, com detergentes catiônicos ou com hipoclorito de sódio.

Prokopowitsch *et al.* (1989) analisaram a variação da porcentagem de penetração do corante azul de metileno na dentina radicular em dentes humanos extraídos, usando como substância auxiliar da instrumentação o creme de Endo PTC, associado ao hipoclorito de sódio a 1,0%, e lavagem final com solução de Tergentol-Furacin seguido, ou não, do emprego final do EDTAC. Constatou-se que não houve diferença estatisticamente significativa em relação à permeabilidade dentinária radicular, frente ao uso, ou não, do EDTAC no final do preparo.

Ohara *et al.* (1993) fizeram um estudo para determinar os efeitos antibacterianos de vários irrigantes endodônticos contra seis tipos de bactérias anaeróbias. Dos irrigantes testados, a clorexidina foi a substância antibacteriana mais efetiva. O peróxido de hidrogênio, hipoclorito de sódio e o REDTA foram menos eficazes, enquanto que as soluções salinas (cloreto de sódio) foram totalmente ineficazes.

Cruz-Filho (1994) realizou um estudo sobre a ação da solução de EDTAC na microdureza da dentina radicular, nos terços cervical, médio e apical. A análise estatística dos resultados mostrou que a microdureza da dentina diminui em função do tempo de aplicação da solução de EDTAC. A redução da microdureza faz-se sentir no primeiro minuto de aplicação. A dentina cervical é mais dura que a dentina do terço médio e apical, e as microdurezas dos terços médio e apical são estatisticamente semelhantes entre si. A dentina da região central é mais mole que a dentina localizada próxima ao cimento. A microdureza da dentina está relacionada, de modo inversamente proporcional, com o tempo experimental de aplicação do EDTAC.

Cameron (1995) investigou o uso de hipoclorito de sódio a 4,0% e EDTAC a 15% isolados ou em conjunções como irrigantes durante instrumentação manual e irrigação ultra-sônica do canal radicular. O mais efetivo regime foi à irrigação com 1 ml de EDTAC após cada instrumento, seguido por duas exposições de ultra-som por 30 segundos, mais hipoclorito de sódio a 4,0%. Os espécimes neste grupo foram livres de restos ou remanescentes pulpare e *smear layer* superficial.

Outro estudo sobre a capacidade de limpeza da parede do canal radicular (terço apical), frente a alguns fármacos empregados como irrigantes na terapia endodôntica foi realizado por Batista *et al.* (1997) onde concluíram que as substâncias empregadas portaram-se na seguinte ordem decrescente de capacidade de limpeza: creme de Endo PTC neutralizado por hipoclorito de sódio a 1,0%, irrigação final com associação Tergentol-Furacin e EDTA por cinco minutos; solução de hipoclorito de sódio a 1,0% e EDTA por cinco minutos; creme de Endo PTC neutralizado por hipoclorito de sódio a 1,0% e irrigação final com a associação Tergentol-Furacin; solução de hipoclorito de sódio a 1,0% e soro fisiológico.

Fairbanks *et al.* (1997) estudaram a ação de EDTA, EDTAC e EDTAT (EDTA + Tergentol) sobre a microdureza da dentina radicular do terço cervical após sua aplicação durante cinco minutos sobre a superfície dentinária. Os autores concluíram que as soluções quelantes testadas reduziram a microdureza da dentina, e que as soluções de EDTA e EDTAT agiram de modo semelhante. A solução de EDTAC promoveu a maior redução da microdureza da dentina no tempo pesquisado.

Cruz-Filho *et al.* (2001) estudaram a relação entre o efeito quelante das soluções de EDTAC, CDTA and EGTA e a microdureza dentinária. A microdureza Vickers foi determinada pela aplicação de uma carga de 50 g por 15s. A análise estatística dos dados revelou que todas as substâncias quelantes analisadas reduziram significativamente a microdureza dentinária quando comparadas ao efeito do grupo controle (água destilada). Entretanto não houve diferenças estatisticamente significativas entre elas.

Guerisoli *et al.* (2002) analisaram o efeito do EDTAC e do hipoclorito de sódio na remoção do *smear layer* quando submetidos a ultra-som. Em resultados que coincidem com os outros achados da literatura, os autores concluíram que a combinação do EDTAC com o hipoclorito de sódio é eficaz na remoção do *smear layer*.

Souza-Neto *et al.* (2002) avaliaram o efeito das soluções de EDTA, EGTA e CDTA na adesividade de 4 cimentos endodônticos e na microdureza dentinária. Os autores não encontraram correlação entre a adesividade do cimento e a microdureza dentinária.

1.2.3.Os ácidos fracos

Lee *et al.* (1973) investigaram a capacidade de penetração no tecido dentinário do ácido fosfórico 50% e do ácido cítrico 50% através de exame colorimétrico e microscopia eletrônica de varredura. Os autores puderam concluir que nenhuma das duas substâncias foi capaz de penetrar no tecido dentinário.

Loel (1975) propõe o uso do ácido cítrico a 50% como solução irrigante alternando seu uso ao do hipoclorito de sódio durante a instrumentação dos canais radiculares. O autor conclui que o ácido cítrico 50 % é um eficaz agente na remoção de tecido vital e que seu uso ainda condiciona a dentina para receber o material obturador.

Tidmarsh (1978) avaliou através de microscopia eletrônica de varredura a capacidade quelante do ácido cítrico 50% e conclui que o uso dessa substância promoveu paredes isentas de *smear layer*.

Wayman *et al.* (1979) avaliaram a eficácia das soluções de ácido láctico, três concentrações de ácido cítrico, hipoclorito de sódio e soro fisiológico como irrigantes intracanal. Concluíram que o uso de uma solução de ácido cítrico a 10% como lubrificante, seguido de hipoclorito de sódio a 2,5% como irrigante, e depois novo uso de solução de ácido cítrico, produzem paredes radiculares limpas com túbulos dentinários patentes.

Baumgartner *et al.* (1984) estudaram através de microscopia eletrônica de varredura, a efetividade do ácido cítrico 50% associado ao NaOCl na limpeza das paredes dentinárias. Os autores concluíram que esse regime de irrigação foi capaz de promover paredes dentinárias isentas de *smear layer*.

Scelza *et al.* (1986) demonstraram, através de microscopia eletrônica de varredura, que o ácido cítrico a 10% foi eficaz na desobstrução dos túbulos dentinários quando utilizado como irrigação final.

Smith & Wayman (1986) demonstraram que tecido pulpar residual, debris dentinários e bactérias podem persistir nas irregularidades do canal após preparo mecânico cuidadoso. Além disso, descreveram a existência de uma camada amorfa ou *smear layer* em canais instrumentados, que adere à parede do canal, obstruindo os túbulos dentinários. Essa camada pode ser removida com auxílio de quelantes. Os autores compararam a eficácia germicida do ácido cítrico a 25%, ácido cítrico a 50%, hipoclorito de sódio e solução salina estéril, em intervalos de 5 e 15 minutos. Resultados mostraram que o ácido cítrico possui propriedades antimicrobianas, mas não é tão eficaz como o hipoclorito de sódio a 5,25%. Concluíram que a irrigação radicular ideal deve envolver o uso de hipoclorito de sódio e ácido cítrico, este último sendo usado como irrigante final.

Pelo fato de quelantes como o ácido cítrico e láctico ocorrerem naturalmente no organismo, pensa-se que os mesmos sejam mais aceitáveis biologicamente. Mota (1987) realizou um trabalho usando o ácido cítrico a 10, 15 e 20% no globo ocular para observar se ocorreria dano irreversível. Concluiu que o ácido a 20% é muito agressivo, mas os tecidos retomam a normalidade em 96 horas. Com ácido a 10 e 15% o retorno à normalidade é mais rápido, ou seja, em torno de 15 a 20 minutos. Então a concentração indicada é de 10%, pois remove a *smear layer* e é pouco citotóxica (macroscopicamente).

Savioll *et al.* (1993) pesquisaram a capacidade de limpeza dos canais radiculares promovida pelo líquido de Dakin e pelo ácido cítrico em diferentes concentrações (3, 6, e 10%), como soluções irrigantes. Os resultados evidenciaram que nenhuma das soluções testadas possibilitou remoção total de detritos do interior dos canais radiculares. Os terços apicais apresentaram maior quantidade de detritos que os terços médios para todas as soluções testadas. Não houve diferença estatística quanto à capacidade de limpeza entre o Dakin e o ácido cítrico, sendo viável a utilização segura desse último a 10%.

Yamaguchi *et al.* (1996) estudaram várias propriedades do ácido cítrico e da solução de EDTA como agentes descalcificantes e de limpeza na irrigação dos canais radiculares e seus efeitos antibacterianos. A mistura em pó de dentina foi mais solúvel em soluções de 0,5, 1, e 2M de ácido cítrico do que em 0,5M de solução de EDTA. A solução de ácido cítrico mostrou efeitos antibacterianos sobre todas as bactérias utilizadas.

Bitter (1998) verificou por meio da microscopia eletrônica de varredura que o ácido tartárico a 25% foi capaz promover uma limpeza das paredes dentinárias instrumentadas.

Abinader *et al.* (2000) concluíram que o *smear layer* produzido durante a instrumentação radicular dificulta a adaptação dos materiais obturadores às paredes do canal e, conseqüentemente, a infiltração apical ocorre com maior frequência nos dentes onde ele permanece intacto.

Di Lenarda, Cadenaro & Sbaizero (2000) investigando, através de microscopia eletrônica de varredura, a efetividade das soluções de ácido cítrico 1mol L⁻¹ e de EDTA 15% na capacidade de remoção do *smear layer*, concluíram que os efeitos dessas substâncias na dentina humana foram semelhantes.

Scelza, Antoniazzi & Scelza (2000) avaliaram, através de microscopia eletrônica de varredura, a influência da associação do NaOCl com o ácido cítrico 10%, com o EDTA e com H₂O₂ na irrigação final. Os autores concluíram não haver diferenças estatísticas significativas entre os grupos.

1.2.4. Síntese da Revisão

Como resumo da revisão da literatura, resolvemos citar as conclusões do excelente trabalho de Hülsmann, Heckendorff & Lennon, publicado em 2003 no International Endodontic Journal. Após um amplo e crítico exame da literatura, os autores puderam concluir que:

- o De um modo geral, as soluções quelantes podem reduzir o *smear layer* produzido durante a instrumentação;
- o A eficácia das soluções quelantes é mais dependente do tempo de aplicação do que da própria natureza do produto;
- o As soluções quelantes são mais eficazes no terço cervical do canal radicular e, claramente, sua eficácia vai decrescendo quando se aproxima do ápice;
- o Sob as condições de uso clínico, o uso das soluções quelantes é bastante seguro e o risco de dano aos tecidos periapicais é mínimo;
- o O efeito antibacteriano das soluções quelantes é baixo. No entanto elas parecem aumentar a capacidade do NaOCl em penetrar nos túbulos dentinários aumentando assim seu efeito nessas regiões;
- o A eficácia das soluções quelantes na negociação e no preparo de canais calcificados e atresiadados é desconhecido;
- o A efetividade das soluções quelantes não dependente só da concentração e do tempo de trabalho. Ela também é afetada pela relação entre a quantidade de solução quelante disponível e a área da parede dentinária;
- o Soluções a base de EDTA devem ser usadas entre 1 a 5 minutos;

- o Uma irrigação final com uma solução quelante reduz a extensão do *smear layer*, que resulta em paredes dentinárias mais limpas e em uma melhor adaptação do material obturador.

1.3. Microdureza

Os procedimentos restauradores usados na Odontologia são em sua grande maioria baseados em intervenções químicas e / ou mecânicas nos tecidos dentários. Por isso, o conhecimento prévio das propriedades físicas dos tecidos dentários representa um dado relevante para a compreensão dos fenômenos que ocorrem em decorrência da ação de alguns materiais e substâncias.

A medida de dureza de um material é um dos métodos mais simples e comuns de ensaios mecânicos não-destrutivos. A dureza de um material pode ser definida como uma medida da resistência à penetração de um indentador fabricado a partir de um material mais duro que a própria amostra. O propósito dos ensaios de dureza é obter um valor numérico que permita uma distinção entre os diversos materiais quanto à sua capacidade de resistir à penetração de um indentador específico. Os valores assim obtidos para um material dependem de vários fatores, como por exemplo: o seu módulo de elasticidade, a tensão de escoamento à compressão, a anisotropia, entre outros. Por conseguinte, o valor da dureza não pode ser considerado como uma propriedade básica do material, mas sim um valor que é uma indicação do comportamento do material frente às condições impostas em um determinado ensaio de penetração (Mauricio, 1999) Em um ensaio de dureza Vickers (HCV) convencional, uma amostra é indentada através de uma ponta piramidal com a aplicação de uma carga *Q*. A visualização do furo residual, após a indentação, permite a medida de suas diagonais e assim a determinação de sua dureza.

Na Endodontia, os testes de microdureza vem sendo empregados objetivando avaliar a eficácia dos agentes quelantes no tecido dentinário. Hülsmann *et al.* (2003) salientam que depois de inúmeras investigações ainda permanece indefinida a real relevância clínica dos ensaios de microdureza para a avaliação da eficácia das substâncias quelantes. Concordamos com os autores, no que tange ao aspecto relacionado às condições experimentais desse tipo de ensaio, pois é possível a aplicação de uma quantidade relativamente grande de solução quelante, que é colocada diretamente em íntimo contato com o substrato dentinário. Esta situação não pode ser comparada com a situação clínica encontrada em canais atrésicos e calcificados. No entanto, acreditamos que para a realização de uma análise simples e comparativa entre substâncias, esse tipo de ensaio, sendo criteriosamente calibrado,

ainda pode contribuir de modo a verificar o poder de desmineralização dos agentes quelantes.

1.4.Técnicas de Microscopia

1.4.1.Trabalhos Anteriores

A terapia endodôntica moderna encontra-se embasada em princípios e conceitos que foram consolidados através de investigações científicas de natureza clínica e experimental. Esse processo evolutivo foi lento, árduo e trabalhoso e, em parte, seu maior desenvolvimento nos últimos anos se deve principalmente ao equilíbrio científico entre os objetivos mecânicos e biológicos do tratamento endodôntico com avanços na área metodológica da pesquisa endodôntica.

Devemos destacar que a familiarização dos pesquisadores com metodologias que envolvem tecnologia de ponta, como as técnicas de microscopia, contribuiu de modo significativo para a evolução científica da Odontologia e no caso específico da Endodontia.

Hoje a microscopia representa uma área complexa e em franco desenvolvimento. Até a década de 50, a microscopia era praticamente restrita ao uso do microscópio óptico. O desenvolvimento da eletrônica vem tornando o uso desses aparelhos mais prático e eficaz, pois hoje existem microscópios ópticos totalmente automatizados e diretamente controlados pelo computador. Ajustes de foco, iluminação, magnificação e posicionamento da amostra são processos automatizados, assim como, a aquisição, armazenamento, processamento, análise e extração de atributos das imagens podem ser realizados via digital. Este processo vem possibilitando a realização de tratamentos estatísticos mais robustos e seguros, tornando assim a pesquisa mais confiável cientificamente.

O desenvolvimento e a aplicação na endodontia de técnicas de magnificação baseadas na emissão de íons e elétrons, como a microscopia eletrônica de varredura (MEV), possibilitou o surgimento, na década de 60, dos pioneiros trabalhos que verificaram a formação e as características do *smear layer* formado após o corte da dentina. Atualmente, o microscópio eletrônico de varredura é um equipamento altamente versátil que permite a obtenção de informação química e microestrutural de diversos tipos de materiais. Até hoje, a microscopia eletrônica de varredura representa o método tradicional de se obter informações microscópicas sobre a superfície dentinária.

A opção pela análise através da microscopia eletrônica de varredura representa uma constante em trabalhos que objetivam examinar a limpeza das paredes

dentinárias do canal radicular (Brancini *et al.*, 1983; Baumgartener *et al.*, 1984, Bitter, 1989, Menezes *et al.*, 2003). A imagem criada pelo feixe de elétrons do microscópio eletrônico de varredura, é capaz de fornecer uma visão com perspectiva tridimensional, evidenciando o relevo da parede radicular a ser examinada. Pode-se definir debris e *smear layer* como entidades separadas, permitindo assim análises diferenciadas para cada um (De Deus, 2000). Através do MEV, toda a superfície das paredes dos canais radiculares pode ser examinada com riqueza de detalhes e seus resultados então caracterizados e avaliados.

No entanto, a utilização do microscópio eletrônico de varredura para avaliação da limpeza do sistema de canais radiculares abre precedentes para diversas críticas. É notória a dificuldade de realização de análises quantitativas da microestrutura dentinária quando o MEV é utilizado, pois, o que é obtido é a impressão do observador sobre uma imagem da região examinada – quando o que realmente precisamos é de um dado estatístico concreto referente à limpeza do sistema. Existem trabalhos clássicos da literatura endodôntica que analisam a limpeza do sistema de canais radiculares e a capacidade quelante de substâncias através de MEV. No entanto, mesmo nesses trabalhos são facilmente identificados erros metodológicos comuns em microscopia eletrônica de varredura, tais como: danos na amostra provocados pelo alto vácuo e pela metalização da amostra, obtenção de dados por *scores* – o que torna os resultados extremamente subjetivos e com isso pouco confiáveis estatisticamente – a falta de reprodutibilidade do experimento e a dificuldade de localização das áreas escolhidas para análise.

Porém, avanços significativos ocorreram na microscopia eletrônica de varredura. Na década de 90, começaram a aparecer os primeiros aparelhos que utilizam baixo vácuo. Essa evolução foi muito importante para a área da biologia e de ciências médicas, pois possibilitou a visualização em grande aumento e em tempo real de uma infinita variedade de amostras biológicas. Esses aparelhos hoje já representam uma realidade em diversos centros de pesquisa do mundo, obtendo resultados entusiasmadores.

Os resultados conflitantes dos experimentos com MEV e todas as falhas metodológicas acima citadas levaram autores como Çalt & Serper (2000) e Serper & Çalt (2002) a utilizar modelos metodológicos mais quantitativos e portanto mais precisos tais como espectrometria de absorção atômica, testes de microdureza dentinária, e observações através de microscopia de força atômica.

Os experimentos que utilizam a espectrometria de absorção atômica e os testes de microdureza dentinária podem ser considerados mais precisos, reprodutíveis e menos subjetivos pois são evidentemente ensaios que geram resultados mais

quantitativos. No entanto, também existe a crítica de que este tipo de método não permite associar com facilidade os resultados físicos obtidos com uma visualização da superfície dentinária em estudo.

Na tentativa de alcançar uma metodologia mais completa ou seja, que nos forneça uma visualização das mudanças na microestrutura dentinária associada à capacidade de extração um dado físico concreto referente à ação da substância quelante, surgiu o interesse na Microscopia de Força Atômica.

1.4.2. Microscopia de Força Atômica

Em meados da década de 80, um grupo de pesquisadores de Zurique Binning, Quate & Gerber, 1986), desenvolveu um novo método de magnificação e análise que vem sendo cada vez mais utilizado em áreas como a física, biologia, ciência e a engenharia de materiais. Tamanha foi a importância e a aplicabilidade deste novo método de microscopia que os autores ganharam um prêmio Nobel pela descoberta. Desde então, diversos tipos de aparelhos foram desenvolvidos a partir desta tecnologia conhecida genericamente como microscopia de ponta de prova (scanning probe microscopy).

A microscopia de força atômica (AFM) representa um dos tipos de microscopia de ponta de prova. A microscopia de força atômica pode ser usada *in situ* para se obter a imagem tridimensional da estrutura biológica de amostras em um meio-ambiente fisiológico (Eliades *et al.*, 1999). Isto permite que processos bioquímicos e fisiológicos sejam monitorados em tempo real com uma resolução similar àquela obtida em microscopia eletrônica.

Atualmente, as pesquisas na área de materiais odontológicos focalizam a estrutura, rugosidade de superfície e as propriedades químicas e mecânicas do substrato dentinário. O grande desafio atual é a investigação das relações entre propriedade e estrutura dos materiais em escalas ainda menores, o que torna a AFM uma técnica altamente procurada. Apesar de outras técnicas poderem ser utilizadas para estudar tais propriedades, a maior vantagem da AFM é o fato de suas medidas serem freqüentemente realizadas com o mínimo preparo da amostra, permanecendo os materiais e suas propriedades em seu estado original. Outra vantagem é a sua utilização como um aparelho de mensuração da superfície dentinária. Por outro lado, alguns critérios devem ser cumpridos para o preparo da amostra na que diz respeito à regularidade de sua superfície. A amostra não pode ser excessivamente rugosa, uma vez que existem limitações na faixa de variação vertical da ponta de prova. A segunda

limitação se refere ao tamanho da amostra, que deve se adaptar à amplitude da varredura horizontal do microscópio.

No caso de amostras de dentina, preparos não-destrutivos impedem sua desidratação que levaria ao colapso do colágeno e logo à modificação da superfície. A medição direta de tais superfícies proporciona informações essenciais para se entender tratamentos clínicos e para o desenvolvimento de novos materiais e técnicas que utilizam o substrato dentinário. Além disso, como a AFM não é destrutiva, as mesmas amostras podem ser seqüencialmente avaliadas quando submetidas a vários tratamentos, ou podem ser utilizadas adiante em outras técnicas de análise destrutivas objetivando a correlação de estudos.

O método de AFM mais usado em pesquisa odontológica é o de contato, no qual uma microagulha de silício presa a um cantilever é colocada permanentemente em contato com a superfície. A amostra é deslocada em um plano x-y em relação à ponta e a imagem resultante é um mapa topográfico da superfície da amostra. Durante esse processo, as forças atrativas ou repulsivas dos átomos da amostra e da ponta da agulha interagem e pelo deslocamento vertical (direção Z) do cantilever obtém-se informações topográficas da superfície da amostra. Essas informações são enviadas ao computador e processadas por um software que permite a formação de imagens tridimensionais e a obtenção de informações sobre as propriedades mecânicas do material. Por outro lado o movimento da ponta da sonda combinado a forças de adesão entre a superfície e a ponta, pode causar danos relevantes tanto à superfície quanto à sonda e criar artefatos durante a coleta de dados. Estes experimentos, com auxílio de um aparato especial (célula de líquido), também podem ser realizados em ambiente aquoso com o objetivo de diminuir tal problema, pois deste modo, as forças capilares existentes entre a sonda do AFM e a superfície dentinária são reduzidas e a chance da ocorrência de danos na superfície da amostra é então diminuída. Com o uso da célula de líquido os processos de alteração microestrutural podem ser estudados em tempo real, podendo ser sendo capturadas diversas seqüências de imagens e tendo a capacidade de observação de tempo real. Deste modo, experimentos *in situ* podem ser realizados no AFM.