

Juliane Maria Guerreiro Tanomaru

EFEITO DE SOLUÇÕES IRRIGADORAS E DO
HIDRÓXIDO DE CÁLCIO COMO CURATIVO DE
DEMORA SOBRE O LPS-ENDOTOXINA.
ESTUDO HISTOPATOLÓGICO EM
DENTES DE CÃES.

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia - Área de Endodontia.

Orientador: *Prof.Dr. Idomeo Bonetti Filho*

ARARAQUARA
2002

Tanomaru, Juliane Maria Guerreiro

Efeito de soluções irrigadoras e do hidróxido de cálcio como curativo de demora sobre o LPS-endotoxina. Estudo histopatológico em dentes de cães. / Juliane Maria Guerreiro Tanomaru. – Araraquara : [s.n.], 2002. 159 f. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia.

Orientador : Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho.

1. Endotoxinas 2. Hidróxido de cálcio 3. Irrigantes do canal radicular 4. Medicação intracanal I. Título.

Dados Curriculares

Juliane Maria Guerreiro Tanomaru

NASCIMENTO 23.11.1972 – BOTUCATU/SP
FILIAÇÃO Olavo Benedito Guerreiro
Maria das Graças Conceição Guerreiro

1993/1996 Curso de Graduação
Faculdade de Odontologia da Puccamp

1997 Curso de Atualização em Endodontia, na
Faculdade de Odontologia de Araraquara -
UNESP

1998/2000 Curso de Especialização em Endodontia
Faculdade de Odontologia de Araraquara -
UNESP

2000/2001 Curso de Pós-Graduação em Endodontia,
nível de Mestrado, na Faculdade de Odontologia
de Araraquara – UNESP

ASSOCIAÇÃO SBPqO

À Deus,

“Deus, infinitamente bom,
que vosso nome seja abençoado pelos
benefícios que me concedestes.

Eu seria indigna se os atribuísse ao acaso dos
acontecimentos ou ao meu próprio mérito.

Bons Espíritos, que fostes os executores da
vontade de Deus, e sobretudo a vós,
meu anjo guardião, eu vos agradeço

Desviai de mim a idéia de orgulhar-me
pelo que recebi e de não aproveitar
os benefícios recebidos somente para o bem

Eu vos agradeço especialmente pela conquista
de mais esta etapa da minha vida.”

Juliane

DEDICATÓRIA

A meus pais Maria e Olavo

*De vocês recebi o Dom mais precioso do universo: **A Vida.***

Já por isso, seria infinitamente grata, mas vocês não se contentaram em presentear-me apenas com ela.

Revestiram minha existência de amor, carinho e dedicação.

Cultivaram na criança todos os valores que a transformaram numa mulher responsável e consciente.

*Abriram as portas do meu futuro iluminando meu caminho com a luz mais brilhante que puderam encontrar: **O Estudo.***

Trabalharam dobrado, sacrificando seus sonhos em favor dos meus; não foram apenas pais, mas também amigos e companheiros, mesmo nas horas em que meus ideais pareciam distante e inatingíveis.

Tantas foram as vezes que meu cansaço e preocupações foram sentidos e compartilhados por vocês, numa união que me incentivava a progredir.

Hoje, procuro entre as palavras aquela que gostaria que seus corações ouvissem do meu.

*E só encontro um simples e sincero: **Obrigada.***

Ao meu marido Mário, pelo amor, carinho e amizade e compreensão com que temos vivido esses anos. Você se faz presente em todos os momentos, firmes ou trêmulos. E, passo a passo, pude sentir sua mão na minha, transmitindo-me a segurança necessária para enfrentar meu caminho e seguir... a tua presença é qualquer coisa com a luz e a vida e eu sinto que em meu gesto existe o teu gesto e em minha voz a tua voz.

Ao Professor Mário Tanomaru Filho, pelo incentivo na realização de pesquisas, pela grande colaboração na realização deste trabalho, que era um sonho e me ajudou a torná-lo realidade, pelo exemplo de carinho demonstrado por seus alunos e principalmente pelo amor à Endodontia Biológica e à docência.

Aos meus irmãos Cristiano e Rodrigo pela ótima convivência que sempre tivemos, pelo amor com que vocês me tratam e por todo incentivo na luta para alcançar meus objetivos. Tenho certeza que vocês estão muito orgulhosos de sua irmã.

Aos meus familiares e amigos, pelo apoio e carinho com que sempre me acolheram, acreditando e confiando sempre na minha pessoa.

À Júlia, minha linda e amada sobrinha; pelo seu amor, sinceridade, alegria e pureza.

Dedico este trabalho!

Ao Prof. Dr. Mário Roberto Leonardo,

“Ensinar é um Dom, mas mais que ensinar é cativar os corações de seus seguidores, para que além de seus ensinamentos permaneça na memória a imagem de um mestre.”

Obrigada pela formação, pelas sugestões neste trabalho que foram tão valiosas e acima de tudo pela amizade.

Ao Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho,

Pela contribuição e orientação na minha formação de Mestre, por partilhar deste momento único em minha vida, pelos ensinamentos e exemplo de professor, pela amizade e confiança depositada em mim.

À Profa. Dra. Léa Assed Bezerra da Silva,

Pelo exemplo de mulher batalhadora, competente e principalmente forte, luta pelo seu ideal e não desanima. Um exemplo de pesquisadora e mãe.

Nossa convivência contribuiu para que aumentasse ainda mais minha estima e admiração, e desejo seguir todos ensinamentos que me foram transmitidos e fazer jus a este aprendizado.

À Prof. Dra. Isabel Yoko Ito,

Pelo exemplo de Professora, pesquisadora e de ser humano, minha admiração pelo saber, pela dedicação e pela simplicidade.

Minha eterna admiração!

Agradecimentos especiais

Ao Prof. Dr. Roberto Miranda Esberard, Prof. Dr. Renato Toledo Leonardo e Prof. Dr. Fábio Luiz de Camargo Villela Berbert, meu respeito pelo aprendizado, companheirismo, amizade, e pela contribuição na minha formação profissional.

À Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- UNESP, nas pessoas do Diretor, Prof. Dr. Ricardo Samith Georges Abi Rached, e Vice-Diretor, Prof. Dr. Roberto Miranda Esberard.

Ao Prof. Dr. Paulo Nelson Filho, da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto-USP, que com simplicidade e competência de transmitir seus conhecimentos, muito me ensinou.

Ao Prof. Dr. Raphael Carlos Comelli Lia, Professor Titular aposentado da Disciplina de Patologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, pela dedicação à pesquisa e pelos ensinamentos.

Ao Sr. Edson Luis Mori, pela colaboração que prestou na realização da parte experimental deste trabalho, pelos ensinamentos muito valiosos e pelo carinho com que tratou nossos cães.

Ao funcionário da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto-USP, Marco Antônio dos Santos, pelo auxílio no processamento histológico.

Ao funcionário da Disciplina de Histologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP, Luis Antonio Potenza, pelo auxílio no

processamento histológico.

*Aos funcionários do Setor do Biotério do Câmpus de Araraquara-UNESP,
em especial ao Sr. Fernando, e ao nosso veterinário
Dr. Alessandro pelos cuidados dispensados no tratamento dos animais
em pesquisa.*

*Ao Sr. Júlio César de Matos, pela paciência e dedicação na
documentação fotográfica e impressão desta.*

*Aos funcionários da Disciplina de Endodontia da Faculdade de
Odontologia de Araraquara-UNESP, em especial à Sra. Mercedes
Emília Rimoldi Guellis, Sr. Pedro Decário, Sra. Ivone Fornazari
Domingues e Sra. Rita dos Santos, pelo convívio amigável e atenção
que sempre me dispensaram.*

*À Sra. Célia Regina Fanchine Sanches Silva, pela auxílio, atenção e
amizade.*

*Aos colegas do Curso de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de
Araraquara-UNESP, especialmente da área de Endodontia, Maria
Eugênia, Paulo, Ângelo, Fernando e Érika, pela convivência, amizade
e colaboração.*

*Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de
Odontologia de Araraquara-UNESP, em especial à Sra. Mara Cândida
M. do Amaral, Vera Lúcia P. Roque e Rosângela A. Silva dos*

Santos, pela atenção e educação com que sempre me trataram.

*Às Bibliotecárias Maria Helena M. Komasti Leves e
Maria José Peron, pela orientação precisa na organização desta tese e
das referências bibliográficas.*

*À CAPES, pelo apoio financeiro à realização deste Curso de Mestrado
e principalmente à realização deste trabalho.*

*Aos alunos das 73^a e 74^a turmas do Curso de Graduação em Odontologia da UNESP-
Araraquara, pelo apoio, amizade e respeito com que sempre me trataram.*

*Aos Animais utilizados neste experimento, que sempre foram
respeitados e contribuíram para a realização de mais uma pesquisa,
de fundamental importância para os seres humanos*

*“E à todos aqueles que de alguma forma ou
palavra colaboraram na minha formação
de Mestre e na realização deste trabalho”*

Obrigada!

Sumário

1.INTRODUÇÃO	11
2.REVISÃO DA LITERATURA	22
A. Da microbiota isolada dos canais radiculares de dentes com lesão periapical	23
B. Da participação das endotoxinas bacterianas na patologia pulpar e periapical	39
C. Da inativação da endotoxina bacteriana pelas soluções irrigadoras	52
D. Da inativação da endotoxina bacteriana pelo hidróxido de cálcio	54
3.PROPOSIÇÃO	60
4.MATERIAL E MÉTODO	62
5.RESULTADO	74
6.DISSCUSSÃO	101
Da Metodologia	102
Dos Resultados	113
7.CONCLUSÃO	122
8.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	124
<i>Resumo</i>	154
<i>Abstract</i>	157

Introdução

Embora estímulos físicos e químicos estejam relacionados à etiopatogenia das alterações pulpares e periapicais, os de natureza bacteriana representam a causa mais comum. Tem sido demonstrada a correlação entre a invasão microbiana na cavidade pulpar e as alterações inflamatórias da polpa dentária, com posterior comprometimento do seu suprimento sangüíneo, e conseqüente necrose do tecido pulpar (Kakehashi et. al., 1965).⁶⁶ Concomitantemente, o potencial imunogênico do conteúdo séptico/tóxico do sistema de canais radiculares, atua no desenvolvimento das reações periapicais (Wittgow & Sabiston, 1975;¹⁶² Moller et al., 1981;⁹⁴ Sundqvist, 1976;¹⁴¹ Walton & Ardjamand, 1992;¹⁵⁷ Fouad et al., 1992, 1993;^{41,42} Watts & Paterson, 1992;¹⁶⁰ Yamasaki et al., 1992, 1994;^{166,165} Almeida, 1993;⁴ Leonardo et al., 1994, 1995;^{77,78} Tani-ishi et al., 1994, 1995).^{147,148}

Segundo Morse (1981),⁹⁷ antes de 1970, devido à falta de técnicas para isolamento de bactérias anaeróbias, as espécies bacterianas mais comumente observadas nos canais radiculares eram do grupo conhecido como *Streptococcus viridans*, recuperadas em técnicas aeróbias de crescimento microbiano. Posteriormente, o desenvolvimento de meios de cultura pré-reduzido aplicados à área da microbiologia médica e à microbiologia bucal proporcionou um avanço técnico e científico que revolucionou o conceito de infecção endodôntica. Assim, os

microrganismos anaeróbios obrigatórios passaram a ser reconhecidos como os predominantes na microbiota endodôntica de dentes com reação periapical crônica (Sundqvist, 1976;¹⁴¹ Moller et al., 1981;⁹⁴ Fabricius et al., 1982;³⁸ Bystrom & Sundqvist, 1981, 1983, 1985;^{26,27,28} van Winkelhoff et al., 1992;¹⁵⁶ Assed et al., 1996;¹⁰ Gomes et al., 1994, 1996).^{44,45} Também, foi comprovado que este quadro infeccioso é resultante de sucessivas e dinâmicas alterações das condições bioquímicas na cavidade pulpar, as quais estão relacionadas à tensão de oxigênio, disponibilidade de nutrientes e trocas metabólicas (Fabricius et al., 1982;³⁸ Fischer & Huerta, 1984;³⁹ Ter Steeg & van der Hoeven, 1992;¹⁵¹ Sundqvist, 1992),¹⁴².

Após infecção inicial do canal radicular por microrganismos aeróbios e anaeróbios facultativos, instala-se uma infecção endógena e polimicrobiana, onde passam a predominar, com o aumento do tempo de infecção, as espécies anaeróbias obrigatórias e Gram-negativas, particularmente as espécies *Prevotella* e *Porphyromonas*, caracterizando assim o denominado *shift* microbiano (Moller et al., 1981;⁹⁴ Fabricius et al., 1982;³⁸ Sundqvist et al., 1989;¹⁴⁴ Wu et al., 1989;¹⁶⁴ Sundqvist, 1992, 1994;^{142,143} Tani-ishi et al., 1994).¹⁴⁷

A microbiota endodôntica (Moller et al., 1981;⁹⁴ Pitt Ford, 1982;¹¹⁰ Wu et al., 1989;¹⁶⁴ Fouad et al., 1992;⁴¹ Tani et al., 1992;¹⁴⁶ Wang & Stashenko, 1993;¹⁵⁹ Yamasaki et al., 1992, 1994)^{166,165} e seus subprodutos (Pitts et al., 1982;¹¹² Stashenko, 1990;¹³⁸ Horiba et al., 1991,

1992;^{60,61} Ito et al., 1996),⁶³ têm sido os responsáveis pela indução das respostas inflamatória e imunológica na região periapical (Stashenko, 1990;¹³⁸ Fouad et al., 1992;⁴¹ Stashenko, et al., 1992;¹³⁹ Yamasaki et al., 1992;¹⁶⁶ Kettering & Torabinejad, 1993;⁶⁸ Wang & Stashenko, 1993;¹⁵⁹ Tani-Ishi et al., 1995),¹⁴⁸ bem como pelas alterações bioquímicas desse ambiente, como mudança de pH (Mc Cormick et al., 1983),⁸⁷ liberação de imunoglobulinas (Stern et al., 1981;¹⁴⁰ Rocha et al., 1993),¹¹⁷ metabólitos do ácido aracdônico (Wang & Stashenko, 1993;¹⁵⁹ Cotti & Torabinejad, 1994;³³ Takayama et al., 1996),¹⁴⁵ enzimas (Aqrabawi et al., 1993)⁸ e peptídeos com propriedades inflamatórias, ou seja, as citocinas (Stashenko et al., 1992;¹³⁹ Wang & Stashenko, 1993;¹⁵⁹ Takayama et al., 1996)¹⁴⁵ os quais contribuem para a ocorrência da reabsorção óssea e cemento-dentinária, dos tecidos apicais e periapicais (Moller et al., 1981;⁹⁴ Pitt Ford, 1982;¹¹⁰ Tronstad 1992;¹⁵⁴ Fouad et al., 1992, 1993;^{41,42} Yamasaki et al., 1994;¹⁶⁵ Leonardo & Silva, 1998;⁷⁵ Lomçali et al., 1996;⁸⁵ Silveira, 1997).¹³⁴

Os microrganismos Gram-negativos, predominantes na microbiota de dentes sem vitalidade pulpar e lesão periapical crônica visível radiograficamente, além de possuírem diferentes fatores de virulência, e gerarem produtos e sub-produtos tóxicos aos tecidos apicais e periapicais, contêm a endotoxina em sua parede celular. Esse fato é particularmente importante, uma vez que a endotoxina, constituída de lipopolissacarídeos (LPS), é liberada durante a multiplicação ou morte

bacteriana, exercendo uma série de efeitos biológicos (Mc Gee et al., 1992;⁸⁸ Barthel et al., 1997),¹³ que conduzem à reação inflamatória (Rietschel & Brade, 1992)¹¹⁵ e a reabsorção óssea na região periapical (Stashenko, 1990;¹³⁸ Yamasaki et al., 1992).¹⁶⁶

O invólucro das bactérias Gram-negativas é composto por duas camadas: a membrana citoplasmática e a parede celular. A membrana citoplasmática, mais interna, constitui-se de uma bi-camada fosfolipídica, com proteínas e está envolvida no transporte de nutrientes, íons e elétrons, na síntese de lipídeos e em outras atividades metabólicas (Rietschel & Brade, 1992).¹¹⁵ A parede celular ou membrana esquelética, é composta de peptidoglicano, proteínas, uma bi-camada de fosfolipídeos e lipopolissacarídeos, também conhecidos como endotoxinas ou LPS (Mc Gee et al., 1992).⁸⁸ O LPS é constituído de três regiões (Ito et al., 1998),⁶⁴ sendo a primeira delas denominada *cadeia lateral O* (antígeno O ou somático), responsável pelo fraco potencial antigênico do LPS. A segunda, localizada mais profundamente é a região do *core* (núcleo), que contém 2-keto-3-deoxioctanato (KDO) ou heptose, galactose, glicose e N-acetilglicosamina ligados à terceira região, que é denominada *Lípide A* (Mc Gee et al., 1992;⁸⁸ Rietschel & Brade, 1992).¹¹⁵

A toxicidade da endotoxina (LPS) encontra-se situada na região da molécula correspondente ao *Lípide A* (Mc Gee et al., 1992),⁸⁸ o qual, estruturalmente, é composto por duas moléculas de açúcar (glicosamina) modificadas por fosfato (PO₄), e um número variável de

cadeias de ácidos graxos, que apresenta de 14 a 17 átomos de carbono (Rietschel & Brade, 1992).¹¹⁵

O ser humano apresenta alta sensibilidade à endotoxina bacteriana, observada por meio de vários parâmetros, como granulocitoses, febre e produção de Fator de Crescimento (Wolff, 1973).¹⁶³ Outros trabalhos demonstram que a ação da endotoxina bacteriana não ocasiona lesões celulares ou teciduais diretamente, mas ocorre por meio do estímulo de células do sistema imunológico através da liberação de mediadores químicos. A endotoxina de bactérias vivas ou mortas, íntegras ou em fragmentos, atuando sobre macrófagos (Rietschel & Brade, 1992),¹¹⁵ neutrófilos (Munford & Hall, 1986)⁹⁸ e fibroblastos (Day et al., 1998),³⁶ desencadeia a liberação de um número de mediadores químicos inflamatórios ou citocinas, tais como TNF (Fator de Necrose Tumoral), Interleucinas, Interferon e Prostaglandinas (Cotran et al., 1991;³² Mc Gee et al., 1992,⁸⁸ Matsushita et al., 1999).⁸⁹ O LPS é também citotóxico (Horiba et al., 1989),⁶² atuando como potente indutor da produção de óxido nítrico, decorrente da explosão oxidativa nas células que estão em contato com a endotoxina (Blix & Helgeland, 1998).²⁰

O LPS induz febre, ativa o Fator de Hageman (Mc Gee et al., 1992)⁸⁸ e o sistema complemento (Cotran et al., 1991;³² Horiba et al., 1992),⁶¹ atuando em eventos da resposta inflamatória como aumento da permeabilidade vascular, quimiotaxia para neutrófilos e macrófagos, liberação de lizozima e linfocinas (Morrison & Kline, 1977),⁹⁵ ativação da

cascata do ácido aracdônico (Cotran et al., 1991;³² Mc Gee et al., 1992),⁸⁸ sendo mitogênico para linfócitos B (Mc Gee et al., 1992)⁸⁸ e provocando degranulação de mastócitos (Hook et al., 1970).⁵⁹ Em canais radiculares infectados, de acordo com Seltzer & Farber (1994),¹²⁶ a endotoxina pode contribuir para o aumento na liberação de substâncias vasoativas e neurotransmissoras na região das terminações nervosas dos tecidos periapicais, conduzindo à ocorrência de dor.

Segundo Torabinejad et al. (1985),¹⁵² e Stashenko (1990)¹³⁸, os produtos do metabolismo do ácido aracdônico, a ativação do sistema complemento e a liberação de mediadores químicos, principalmente pelos macrófagos, desempenham um importante papel na reabsorção óssea, correlacionadas com as lesões periapicais observadas em dentes humanos.

Além de promover reação inflamatória, o LPS adere-se de forma irreversível aos tecidos mineralizados, mantendo-se como potente estimulador da reabsorção óssea (Schein & Schilder, 1975;¹²³ Yamasaki et al., 1992),¹⁶⁶ atuando na síntese e na liberação de citocinas ativadoras de osteoclastos (Ito et al., 1996).⁶³

Atualmente, durante o tratamento de canais radiculares de dentes portadores de necrose pulpar e reação periapical crônica, o objetivo maior do profissional não deve ser apenas a morte bacteriana, mas também a inativação da endotoxina, ou melhor, a inativação do Lípide A, que é a porção virulenta da endotoxina. Segundo Niwa et al.

(1969)¹⁰⁴ e Dwyer & Torabinejad (1981),³⁷ substâncias altamente alcalinas, como a soda cáustica (NaOH), são capazes de hidrolisar a molécula do Lípide A, tornando-a não tóxica. No entanto, tais substâncias são consideradas altamente agressivas aos tecidos periapicais vivos, limitando sua utilização na prática clínica.

O tratamento endodôntico dos dentes portadores de necrose pulpar e radiolucidez periapical tem como objetivo a diminuição desta infecção a níveis que permitam o processo de reparo do organismo (Abranson, 1963;¹ Seltzer et al., 1963;¹²⁷ Zeldow & Ingle, 1963;¹⁷¹ Leonardo, 1967;⁷³ Morse, 1971;⁹⁶ Fouad et al., 1993).⁴² Com essa finalidade, a neutralização imediata do conteúdo séptico-tóxico, seguida do preparo biomecânico, coadjuvados por solução irrigadora à base de hipoclorito de sódio concentrado, consistem em importantes passos para o controle dessa infecção. Contudo, essa fase de modelagem e limpeza, não tem proporcionado adequado saneamento a todo o sistema de canal radicular (Bystrom & Sundqvist (1981), (1983), (1985);^{26,27,28} Sjögren & Sundqvist, 1987;¹³⁵ Rodrigues & Biffi, 1989;¹¹⁸ Gomes et al., 1996;⁴⁶ Sjögren et al., 1997).¹³⁶

No entanto, o preparo biomecânico coadjuvado por soluções que apresentem ação antimicrobiana é de fundamental importância no tratamento endodôntico de dentes sem vitalidade pulpar e com reação periapical crônica (Bystrom & Sundqvist, 1983, 1985;^{27,28} Sjögren & Sundqvist, 1987)¹³⁵ embora, tem sido demonstrado que a

solução de hipoclorito de sódio, mesmo em elevada concentração, não neutraliza grandes quantidades de endotoxinas (Buttler & Crawford, 1982).²⁵ Acrescenta-se, ainda, que na eventualidade de eliminar toda a microbiota situada no canal radicular principal, a solução de hipoclorito de sódio é incapaz de atuar efetivamente em toda extensão dos túbulos dentinários, ramificações do canal principal e no biofilme apical, mesmo quando associada à substância quelante ou tensoativa (Berutti et al., 1997),¹⁹ ou a outros agentes antibacterianos (Gutiérrez et al., 1990;⁴⁹ Heling & Chandler, 1998),⁵¹ sendo necessário nestes tratamentos, para complementar a desinfecção proporcionada pelo preparo biomecânico, o emprego do curativo de demora. Quanto à solução de clorexidina, por meio da avaliação da liberação de IL-6 pelos macrófagos em cultura de células, Aibel & Stevens (1999)² concluíram que a solução de gluconato de clorexidina a 1,25% ocasionou pouca ou nenhuma inativação do LPS.

O hidróxido de cálcio apresenta um pH altamente alcalino, sendo utilizado para inúmeras finalidades clínicas, como proteções pulpares diretas (Cohen & Burns, 1997;³¹ Andreasen et al., 2000),⁷ pulpotomias (Holland & Souza, 1998),⁵⁴ tratamento endodôntico de dentes permanentes com rizogênese incompleta (Silva, 1988, 1991;^{129,130} Leonardo et al., 1993),⁸⁰ como parte da composição de cimentos endodônticos (Tanomaru Filho, 1996;¹⁴⁹ Leonardo et al., 1997;⁸² Silva et al., 1997;^{132,133} Grecca, 1999),⁴⁷ em perfurações radiculares (Benatti Neto, 1984),¹⁵ em casos de reabsorções dentárias

(Andreasen & Andreasen, 1994)⁶ e como curativo de demora de dentes com reação periapical crônica (Assed, 1994;⁹ Leonardo et al., 1995;⁷⁸ Silveira, 1997;¹³⁴ Soares, 1999;¹³⁷ Tanomaru Filho, 2001).¹⁵⁰

O emprego de pastas à base de hidróxido de cálcio tem sido amplamente divulgado como curativo de demora em dentes com ou sem vitalidade pulpar. As pastas de hidróxido de cálcio em veículos aquosos, como o soro fisiológico, água destilada ou solução anestésica, apresentam grande dificuldade para o emprego clínico das mesmas. (Lopes et al., 1986).⁸⁶ A pasta Calen, composta de hidróxido de cálcio, óxido de zinco e colofônia, possui o polietileno glicol 400 como veículo, o que favorece o seu uso clínico. Sua principal indicação está relacionada ao emprego como curativo de demora no tratamento de canais radiculares de dentes com vitalidade pulpar (Leonardo & Silva, 1998).⁷⁵

Nelson Filho em 2000,¹⁰¹ demonstrou que o preenchimento de canais radiculares de dentes de cães com a associação de LPS e hidróxido de cálcio não promoveu o desenvolvimento de lesão periapical, ao contrário do grupo em que os canais radiculares foram preenchidos com solução de LPS, confirmando a neutralização dos efeitos virulentos do LPS pela ação do hidróxido de cálcio. Safavi & Nichols, (1993; 1994)^{121,122} demonstraram que o hidróxido de cálcio neutralizou *in vitro* o Lípide A, porção tóxica do LPS, transformando-o em ácidos graxos e amino-açúcares, que são compostos atóxicos. Tais afirmativas foram confirmadas por Barthel et al. (1997)¹³ e Olsen et al

(1999),¹⁰⁵ cujos resultados revelaram que o hidróxido de cálcio foi capaz de inativar o LPS bacteriano *in vitro*.

Torna-se oportuno, o estudo do efeito do preparo biomecânico efetuado com diferentes soluções irrigadoras endodônticas e do emprego de curativo de demora à base de hidróxido de cálcio na inativação do LPS presente no sistema de canais radiculares de dentes com lesão periapical.

Revisão da literatura

A. Da microbiota isolada dos canais radiculares de dentes com lesão periapical

Berg & Nord,¹⁸ em 1973, após aplicação de técnica desenvolvida para colheita de microrganismos anaeróbios, empregando-se um sistema de mistura gasosa de hidrogênio e nitrogênio, aplicado sobre o campo operatório, coroa do dente e canal radicular, permitindo num estudo clínico, a recuperação de 50% a mais de bactérias anaeróbias, comparativamente à técnica convencional.

Wittgow & Sabiston,¹⁶² em 1975, avaliaram as condições microbiológicas de 36 dentes sem vitalidade pulpar e coroas clinicamente intactas. Após isolamento absoluto, anti-sepsia e abertura coronária, foram colhidas amostras dos dentes com pontas de papel absorvente e transferidas para tubos contendo solução salina e gás carbônico livre de oxigênio, e em seguida para tubos contendo ágar-BHI e placas com ágar-sangue pré-reduzidos, em jarra anaeróbia. Cada placa de ágar-sangue semeada, foi incubada em aerobiose e anaerobiose. Obtiveram 32 culturas positivas, sendo que 30 dentes apresentavam radiolucidez periapical. Bactérias anaeróbias obrigatórias foram isoladas de 31

dentes. Encontraram bacilos Gram-negativos anaeróbios em 84% das amostras, sendo *Prevotella ruminicola* e *Prevotella oralis* as mais freqüentes. Bacilos Gram-positivos foram isolados em 10 dentes, sendo a espécie *Eubacterium alactolyticum* a mais freqüente. Os cocos Gram-positivos foram identificados em 9 dentes, prevalecendo *Peptostreptococcus micros*. Em 4 dentes foram observados cocos Gram-negativos, representados por *Veillonella parvula*. Bactérias facultativas estavam presentes em 15 dentes, sendo mais freqüentes os *Streptococcus* facultativos. Segundo os autores, muitos destes microrganismos fazem parte da microbiota bucal, mas significativamente, muitos deles foram conhecidos como patógenos oportunistas.

Sundqvist (1976)¹⁴¹ avaliou microbiologicamente 32 dentes com coroas intactas e necrose pulpar decorrente de trauma. Empregando sistema de cultura em aerobiose e anaerobiose, observou que sempre havia entre três a doze espécies de bactérias por canal radicular. De 88 linhagens bacterianas cultivadas, 83 foram anaeróbias obrigatórias, demonstrando uma aparente correlação de causa e efeito entre microrganismos específicos e sintomas endodônticos. Assim, *Peptostreptococcus*, *Campylobacter*, *Peptococcus*, *Eubacterium* e principalmente as bactérias Gram-negativas, *Prevotella melaninogenica* foram identificadas com alta freqüência, isoladas ou em combinação com outras bactérias, nos dentes com sintomas de inflamação periapical

aguda, como sensibilidade, edema ou exsudação. Também, correlacionou a presença de *Prevotella melaninogenica* com os casos de sensibilidade dolorosa, em cujos canais radiculares havia sempre mais de seis espécies bacterianas. As lesões periapicais de maior dimensão apresentaram maior número de espécies bacterianas.

A microbiota de canais radiculares de dentes sem vitalidade pulpar foi avaliada quantitativamente por Zavistoski et al., (1980).¹⁷⁰ Amostras microbiológicas foram obtidas dos canais radiculares, utilizando-se cones de papel absorvente, os quais eram previamente pesados em balança eletrônica com precisão de 0,001mg. Após a obtenção das amostras, as pontas eram novamente pesadas calculando-se em seguida, a quantidade de microrganismos por miligrama de conteúdo recolhido dos canais radiculares. Após removidos dos canais radiculares, os cones de papel foram transferidos para tubo contendo 1 mL de RTF, agitados por 10 minutos, diluídos e semeados em vários meios de cultura, em condições aeróbia e anaeróbia. Verificaram que o peso das 10 amostras endodônticas variou de 0,10 a 8,69mg. O número médio de bactérias recuperado foi de $10^{7.7} \pm 0,6$ ufc/mL. Todas as amostras apresentavam várias espécies bacterianas, sendo encontrada uma média de 6 espécies por amostra, com os anaeróbios obrigatórios representando 63%. A média de concentração bacteriana obtida foi muito similar a de outros sítios infectados do corpo humano.

De acordo com Morse (1981),⁹⁷ antes de 1970, as espécies bacterianas mais comumente isoladas dos canais radiculares eram do grupo conhecido como *Streptococcus viridans* (Streptococos alfa hemolíticos). Estas bactérias Gram-positivas facultativas incluíam espécies de *Streptococcus mitis*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Neisseria*, bactéria entérica (*Proteus*), *Pseudomonas* e *Candida albicans*. Menos freqüentemente, identificavam os *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus* beta-hemolíticos. Estes microrganismos eram isolados usando-se técnicas de cultura padronizadas em ambiente de aerobiose. Posteriormente, estudos do Instituto Politécnico da Virgínia (VPI) desenvolveram meios de cultura pré-induzidos, aplicados à área microbiológica médica e bucal. Desta maneira ocorreu marcante avanço na microbiologia endodôntica a partir de 1970, com a descoberta de recursos especiais para isolamento e cultivo de bactérias anaeróbias obrigatórias.

Utilizando cultura bacteriológica, microscopia de contraste de fase e coloração de Gram e Giemsa, Fabricius et al.,³⁸ em 1982 analisaram a dinâmica da infecção endodôntica, em dentes de macacos. Realizaram exposição pulpar de 24 dentes, sendo 8 dentes em cada animal, permanecendo expostas ao meio bucal por 7 dias, quando selaram coronariamente. Após 7 dias, efetuou-se colheita bacteriana de 16 canais radiculares de 2 macacos, sendo realizadas novas coletas após

90, 180 e 1060 dias, após o selamento coronário. Ao final de cada avaliação, os 24 dentes apresentaram alterações patológicas visíveis radiograficamente. Os *Bacteroides* e os bacilos Gram-positivos anaeróbios, foram encontrados em quase todas as amostras iniciais e finais, porém, em alguns casos, não observaram a presença de anaeróbios facultativos na amostra final. A porcentagem das bactérias anaeróbias estritas nas amostras iniciais dos grupos de 90 e 180 dias, foi de 50 e 55%, respectivamente, enquanto nas amostras finais, as bactérias anaeróbias estritas representaram 85 a 95% do total das bactérias e no grupo de 1060 dias, os anaeróbios obrigatórios atingiram 98%. Nas amostras iniciais, os principais grupos bacterianos estavam presentes em proporções significantes, com exceção dos cocos gram-negativos. Nas amostras finais, obtidas após a limpeza das paredes dos canais radiculares, houve predomínio de bacilos anaeróbios estritos Gram-positivos e Gram-negativos. Encontraram diferença significativa entre os achados bacterianos em diferentes partes do canal radicular, com predomínio de bactérias anaeróbias estritas na região apical, incluindo bacilos Gram-positivos e Gram-negativos, especialmente *Prevotella melaninogenica*, sugerindo a participação destas bactérias no desenvolvimento e manutenção da periodontite apical.

Keudell et al.,⁶⁹ em 1982, avaliaram os níveis de anticorpos circulantes para bactérias anaeróbias em pacientes portadores

de patologia pulpar e periapical. Amostras bacteriológicas foram obtidas na primeira sessão, quando também colheram sangue dos pacientes. Seis a nove meses após completar o tratamento endodôntico, novas amostras de sangue foram colhidas. As amostras bacterianas dos canais radiculares foram incubadas em tioglicolato, centrifugadas, lavadas em PBS, sendo a suspensão bacteriana colocada em água em ebulição. O antígeno solúvel aquecido foi distribuído em alíquotas e congelado para posterior uso. Realizaram a detecção e quantificação da precipitação de anticorpos por imunoeletroforese e os níveis de IgG e IgM detectados por imunodifusão. Sete pacientes apresentavam patologia pulpo-periapical aguda, e os 2 restantes, patologia periapical crônica. As bactérias predominantes isoladas foram bacilos Gram-negativos anaeróbios, tais como *Bacteroides* e *Fusobacterium*. Com relação aos níveis de IgG e IgM, não houve diferença estatística significativa entre os pacientes portadores de patologia pulpo-periapical e os pacientes normais, de controle. Todavia, atestaram significativos níveis de precipitação de anticorpos para bactérias anaeróbias obrigatórias, na amostra sangüínea inicial, quando comparados à pacientes normais. Observaram também que não houve diferença estatística significativa entre os níveis de anticorpos nos pacientes no momento do tratamento e após 6 a 9 meses da sua conclusão.

Fischer & Huerta,³⁹ em 1984 avaliaram o efeito do pH do meio de cultura, sobre bactérias isoladas de dentes humanos com polpa necrótica. Selecionaram 33 dentes, os quais após abertura coronária, tiveram o canal radicular preenchido com solução salina, a qual foi imediatamente aspirada e colocada em jarra de anaerobiose. Foi realizada coloração de Gram. Em seguida, pontas de papel absorventes esterilizadas foram introduzidas nos canais radiculares, por 3 minutos e posteriormente, colocadas em tubos de cultura. As amostras foram incubadas a 37°C, por 24hs. Nos esfregaços diretos e coloração de Gram, observaram-se os seguintes morfotipos: cocos Gram-positivos (90%); bacilos Gram-positivos (54,5%); bacilos Gram-negativos (51,5%); cocos Gram-negativos (18,1%); filamentos Gram-negativos (9%); filamentos Gram-negativos (6%). Em anaerobiose, o crescimento apresentou correlação com o pH, uma vez que em pH 5, 7 e 9, foi observado 81,8, 93,9 e 60,6% de crescimento bacteriano, respectivamente. Concluíram que a microbiota anaeróbia dos dentes com polpa necrótica é inibida pelo pH alcalino.

Pesquisando a microbiota endodôntica em dentes portadores de necrose pulpar e lesão periapical, Yoshida et al.,¹⁶⁸ em 1987 procuraram correlacionar os microrganismos isolados com os sinais e sintomas clínicos. Em 11 casos de dor espontânea, dor à percussão e exsudação, as bactérias anaeróbias estritas representaram mais de

79,0% do total, e os anaeróbios facultativos foram isolados como principais constituintes, somente em dois casos (18%). Dentre os anaeróbios estritos, *Eubacterium* spp, *Prevotella* ssp, *Porphyromonas* ssp e *Peptostreptococcus* foram os mais freqüentemente encontrados, especialmente *Peptococcus magnus*, isolado em 6 casos, sendo que em três, a incidência foi superior a 60%. Dentre os anaeróbios facultativos, foram isolados *Streptococcus faecalis* e *Streptococcus MG-intermedius* em três casos. No segundo grupo, contendo 13 canais radiculares, havia dor à percussão e ausência de dor espontânea, o quadro bacteriológico não foi estatisticamente diferente do observado no primeiro grupo. No terceiro grupo, com 12 casos, onde não havia dor espontânea, nem à percussão e ausência de exsudação, os anaeróbios facultativos foram os microrganismos prevalentes e o número de bactérias isoladas menor que nos outros grupos. Houve diferença estatisticamente significativa com relação ao crescimento de anaeróbios facultativos ou ausência de crescimento bacteriano, entre o grupo 3 e o grupo 1 ou 2.

Sundqvist et al.,¹⁴⁴ em 1989, investigaram a prevalência da bacteroides pigmentados de negro (BPN), nos canais radiculares de 72 dentes humanos portadores de periodontite apical. Observaram que 22 canais radiculares (30%) apresentavam uma ou mais dessas espécies. Dos 25 BPN recuperados, *Prevotella intermedia* (14) e *Porphyromonas endodontalis* (5) foram os mais comuns. O número médio de bactérias

recuperadas dos canais contendo BPN foi de $2,8 \times 10^5$, enquanto nos canais radiculares com ausência de BPN foi de $3,0 \times 10^3$. O número médio de espécies foi de 7,9 e 3,3 respectivamente. Dos 72 canais radiculares, 91,4% abrigavam bactérias anaeróbias obrigatórias. Dezesesseis dos 22 canais que continham BPN, foram associados com abscesso apical agudo e drenagem purulenta através do canal radicular. As espécies mais freqüentes foram *F. nucleatum*, *P. intermedia*, *Peptostreptococcus micros*, *P. anaerobius*, *Eubacterium lentum* e *E. alactolyticum*.

Kobayashi et al.,⁷⁰ em 1990 investigaram a microbiota dos canais radiculares e da região subgengival de dentes sem vitalidade pulpar e com avançada bolsa periodontal. Analisaram 15 dentes livres de cárie. Sob meios anaeróbios foi realizada a colheita com uma ponta de papel absorvente 25 até o nível do forame apical, que após removida foi transferida imediatamente para 2mL de meio de transporte anaeróbio e em seguida para jarra contendo mistura gasosa anaeróbia. Após a remoção completa da placa subgengival, uma ponta absorvente número 40 foi inserida até alcançar resistência no fundo da bolsa e deixada por 60 segundos, e transferida para jarra anaeróbia. Empregaram incubação aeróbia e anaeróbia. Verificaram que os anaeróbios predominaram nos canais radiculares, em comparação com os da bolsa periodontal. Com exceção das outras bactérias que foram incluídas num mesmo grupo, os cocos foram os mais encontrados nos canais radiculares (28,9%),

seguidos por bacilos móveis (22,1%) e espiroquetas (2,7%). Um similar padrão foi observado nas bolsas periodontais, com percentual de distribuição de 31,9; 22,0 e 4,9%, respectivamente. Com relação a distribuição proporcional de bactérias anaeróbias facultativas e obrigatórias, de acordo com sua morfologia e coloração pelo Gram, com exceção dos cocos gram-positivos facultativos, as demais não apresentaram nenhuma diferença significativa entre o canal radicular e a bolsa periodontal. Os Estreptococos e Actinomicetos facultativos foram predominantes na bolsa periodontal. Das 41 espécies que foram identificadas, 16 foram comuns ao canal radicular e bolsa periodontal. Consideraram que a alta incidência de anaeróbios facultativos na bolsa periodontal ocorreu devido a coleta da porção mais superior da bolsa. Os achados fortalecem a hipótese que as bolsas periodontais profundas podem ser fontes de infecção endodôntica e prévias evidências histológicas sugerem que a infecção pulpar pode ser causada por periodontite avançada, através da qual os microrganismos podem acessar o forame principal.

Stashenko,¹³⁸ em 1990 estudou o papel das citocinas na patogênese das lesões periapicais. Componentes bacterianos como lipopolissacarídeos (LPS), induzem a produção de muitos mediadores polipeptídeos, ou citocinas, pelas células inflamatórias. Estas citocinas, que incluem Interleucina-1 beta (IL-1 β), Interleucina-1 alfa (IL-1 α) e

Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α), derivadas de macrófagos ativados, e uma linfotóxina (TNF- β), derivada dos linfócitos T, têm se mostrado potentes estimuladoras da reabsorção óssea e inibidoras da reparação óssea *in vitro* e *in vivo*. A reabsorção óssea nas doenças inflamatórias tem sido atribuída a ação do fator ativador de osteoclastos (OAF). A maioria dos componentes do OAF foram purificados e verificou-se ser a IL-1 β responsável por 60% da atividade clástica na reabsorção óssea. A IL-1 α , TNF- α , TNF- β , e interações sinérgicas entre estes mediadores, foram responsáveis pelos 40% restantes da reabsorção óssea.

Sundqvist,¹⁴² em 1992 ressaltou que a presença de substâncias semelhantes as do soro, nos canais radiculares, seja o fator ecológico mais importante para o desenvolvimento da infecção endodôntica. Os nutrientes necessários para o crescimento de muitos microrganismos exigentes estão presentes no fluido tecidual e podem também estar disponíveis quando há desintegração do tecido conjuntivo. As bactérias podem utilizar os produtos e subprodutos de outras bactérias, tornando o crescimento de populações bacterianas mistas e dependentes principalmente quanto ao tipo da cadeia alimentar existente, onde o metabolismo de uma espécie supre os nutrientes essenciais para o crescimento de outros membros da população. Vários fatores podem contribuir nas relações interbacterianas, entre eles; as bacteriocinas,

produzidas por *Bacteroides* negros pigmentados e o processo de coagregação, verificado na espécie *Fusobacterium nucleatum*. Portanto, durante o processo da infecção, as fortes interações entre as espécies bacterianas, assim como as forças seletivas do meio, resultam em “shifts microbianos”, passando a dominar um grupo restrito de bactérias patogênicas.

Yamasaki et al.,¹⁶⁶ em 1992, quantificaram a endotoxina, bem como identificaram as bactérias Gram negativas em lesões periapicais experimentais em ratos. Polpas de molares de ratos foram expostas e infectadas e a quantidade de endotoxina avaliada no tecido periapical do primeiro molar direito, enquanto, nos molares esquerdos foi determinado o número de colônias de bactérias Gram-negativas. Nos animais controle, a quantidade de endotoxina nos tecidos periapicais não sofreu alteração durante o período experimental e nenhuma bactéria Gram-negativa foi isolada. Nos animais experimentais, a quantidade de endotoxina nos tecidos periapicais aumentou gradualmente do 1º dia ao 70º dia, e o nível foi significativamente maior que o grupo controle após o 7º dia. Bactérias Gram-negativas foram isoladas dos tecidos periapicais e seu número aumentou gradualmente do 1º ao 14º dia (26 para 82%), mas decresceu no 21º dia, sendo de aproximadamente 60% do 28º ao 70º dia. Os resultados deste estudo mostraram que a quantidade de endotoxinas nos tecidos periapicais aumentou gradualmente com o passar do tempo, sendo isoladas bactérias Gram-negativas na mesma região.

Andreana et al.,⁵ em 1993 pesquisaram, por meio da técnica da imunofluorescência indireta, a presença de bactérias no terço apical de raízes associada a lesões periapicais refratárias ao tratamento endodôntico. Foram utilizados 17 ápices radiculares, obtidos por meio de microcirurgia periapical, os quais foram armazenados em solução de Ringer esterilizada contendo 2% de formalina. Os tubos contendo os ápices foram agitados por um minuto em potência máxima e alíquotas de 10µl preparadas para técnica da imunofluorescência indireta, onde foram pesquisadas a presença de *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, *B. forsythus*, *P. gingivalis*, *E. saburreum*, *F. nucleatum*, *Campylobacter rectus* e *P. endodontalis*. Todas as bactérias foram identificadas, com exceção de *F. nucleatum*, e a mais freqüente foi a espécie *Bacteroides forsythus*, identificadas em 12 amostras. De considerável interesse, *A. actinomycetemcomitans*, um microrganismo associado com patologia periodontal, foi encontrado em 10 amostras e *P. gingivalis* em 7 casos. O nível de infecção por espécie variou de 0,9% para *P. gingivalis* a 25% para *P. endodontalis*. O número médio de espécies por amostra foi 3, variando de 1 a 7. Assim, identificaram uma infecção mista anaeróbia, nos ápices de dentes com lesão periapical refratária.

Na seqüência de estudos, Wang & Stashenko (1993)¹⁵⁹ verificaram que o tratamento com anti-soros específicos para IL-1 β e TNF- β , neutralizou significativamente a atividade reabsorvedora, em

lesões periapicais humanas obtidas cirurgicamente. No entanto, os anticorpos específicos para IL-1 β , TNF- α não demonstraram efeito, sugerindo então que a citocina IL-1 β é mediadora da destruição óssea periapical, em canais radiculares infectados. Também notaram que a indometacina, um bloqueador da cicloxigenase, aboliu a atividade reabsorvedora óssea em 74%, indicando que esta atividade é mediada via indometacina-dependente e independente. A similaridade de citocinas presentes nas lesões agudas e crônicas sugeriu que o comportamento da atividade das lesões periapicais é decorrente da quantidade de citocinas identificadas.

As mudanças na microbiota endodôntica em molares de ratos, correlacionando-se a fase ativa de expansão da lesão com a distribuição de microrganismos específicos, foram conduzidas por Tani-Ishii et al.,¹⁴⁷ em 1994, utilizando-se 20 ratos Sprague-Dawley. Foram realizadas exposições pulpares permanecendo em contato com o meio bucal por 7 e 15 dias, quando os animais foram mortos. Dentes com polpas não expostas serviram como controle negativo. Concluíram através de culturas e contagem de unidades formadoras de colônia, que houve diversificação qualitativa da microbiota durante a fase ativa de expansão da lesão. No entanto, não ocorreu diversificação quantitativa (3,4 espécies por canal, aos 7 dias, para 3,5 por canal aos 15 dias). Previamente à fase de extensa destruição periapical, a microbiota predominante era de *Streptococcus* e posteriormente mantendo-se com

altos níveis e elevando-se os de *Peptostreptococcus*, *Neisseria* e *Bacteroides*. Não observaram a especificidade na microbiota associada à fase de expansão da lesão, a qual foi unicamente caracterizada pelo aumento temporário de anaeróbios e Gram-negativos, significando que muitas combinações bacterianas podem, de fato, serem patogênicas, mediando a destruição tecidual.

Assed et al.,¹⁰ em 1996 examinaram microbiologicamente 25 dentes incisivos superiores de humanos, portadores de lesão periapical crônica, empregando a técnica de imunofluorescência indireta para *Actinomyces viscosus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermédia*. Neste estudo, a espécie *P. gingivalis* mostrou o grau mais leve de infecção. As bactérias anaeróbias estavam presentes em 96% das amostras. *A. viscosus* foi detectada em 56% dos casos e *P. intermedia*, *F. nucleatum* e *P. gingivalis* em 48, 40 e 16%, respectivamente.

Gomes et al., (1996)⁴⁵ observaram que, determinadas espécies bacterianas sediadas nos canais radiculares, estão intimamente relacionadas à incidência de sinais e sintomas endodônticos. Assim, correlacionaram a presença de *Prevotella* ssp / *Peptostreptococcus* ssp, *Prevotella melanninogenica* / *Peptostreptococcus* ssp e *Peptostreptococcus micros* / *Prevotella melaninogenica* com a incidência

de dor espontânea. Nos casos de inflamação periodontal, notaram forte correlação entre as espécies *Peptostreptococcus micros* / *Prevotella* spp. A ocorrência de canais úmidos foi atribuída à presença da associação *Prevotella* spp / *Eubacterium* spp e *Peptostreptococcus* spp / *Eubacterium* spp. As bactérias Gram-negativas são de fundamental importância clínica, pois as endotoxinas podem ser liberadas no meio, como vesículas durante o crescimento bacteriano, ou como fragmentos maiores da membrana após a morte celular, podendo dentre outras múltiplas funções, ativar o fator de Hageman e promover a liberação bradicinina, um potente mediador da dor.

Miller et al.,⁹³ em 1996, pesquisando imunocitoquimicamente o infiltrado celular de lesões periapicais humanas, obtidas cirurgicamente, certificaram que nos granulomas, as citocinas IL-1 β e IL-1 α foram identificadas no infiltrado neutrofílico em 92 e 93%, respectivamente. Ademais, a estimulação destas células com LPS 055:B5 de *Escherichia coli*, forneceu níveis adicionais significativos dessas citocinas, tanto nos sobrenadantes, quanto nos lisados de células. Em vista do grande número de células nas lesões periapicais, positivas imunocitoquimicamente para IL-1 β e IL-1 α , e considerando o amplo espectro de atividade metabólica, catalítica, imunológica, fisiológica e hematopoiética, concluíram que estas citocinas desempenham importantes funções no processo de evolução das lesões periapicais.

B. Da participação das endotoxinas bacterianas na patologia pulpar e periapical

Schein & Schilder,¹²³ em 1975, avaliaram a concentração de endotoxina nos dentes com envolvimento endodôntico, aspirando fluido de 40 canais radiculares e analisado pelo teste de Limulus. Dentes sem vitalidade pulpar apresentaram maiores concentrações de endotoxinas quando comparados aos dentes com vitalidade pulpar. Dentes sintomáticos também apresentaram maiores quantidades que os assintomáticos.

Em 1981, Dahlén et al.³⁵ avaliaram a influência do LPS de cepas de *Fusobacterium nucleatum*, originalmente isoladas de um canal radicular infectado, sobre os tecidos periapicais de dentes de macacos. O LPS foi preparado e purificado da cepa Fus-MC8 de *Fusobacterium nucleatum*, liofilizado e suspenso em solução salina esterilizada, na concentração de 10mg/mL. O experimento foi efetuado utilizando 44 dentes de 4 macacos jovens (*Macaca fascicularis*), os quais, após anestesia, isolamento absoluto, abertura coronária, pulpectomia e exame radiográfico e foram divididos nos seguintes grupos: grupo experimental (27 dentes), onde após instrumentação além do ápice radiográfico, os canais radiculares foram preenchidos com 5-10µL da solução de LPS, com auxílio de seringa e agulha (18 dentes acompanhados por 3 meses e

9 dentes por 7 meses, com novo preenchimento de LPS aos 5 meses) e grupo controle (17 dentes), preenchidos com solução salina por 3 ou 7 meses, como já descrito. Nos 10 dentes restantes, a polpa foi removida no nível do ápice e os canais foram mantidos vazios por 3 ou 7 meses. Nos dois grupos foi realizado selamento coronário com cimento à base de óxido de zinco e eugenol. Em ambos os grupos, os dentes foram radiografados no início e no final do experimento, quando os animais foram mortos por sobredose de anestésico, os maxilares removidos e submetidos ao processamento histológico. Cortes seriados de 8µm de espessura foram corados pela hematoxilina e eosina e Weigert van Gieson. De acordo com os resultados obtidos durante a análise radiográfica, dos 27 dentes do grupo experimental, preenchidos com LPS, 6 evidenciaram destruição dos tecidos periapicais e, em 21 dentes, os achados radiográficos foram inconclusivos. Nos 17 dentes do grupo controle não foram observadas alterações na região periapical. Com relação aos resultados histopatológicos, observaram infiltrado de células inflamatórias, aumento da espessura da membrana periodontal (perda óssea) e reabsorção óssea e radicular, todos de intensidade predominantemente moderada, tanto no grupo de 3 quanto no de 7 meses, quando os canais foram preenchidos com LPS. O desenvolvimento de granuloma periapical foi comum nos dentes desse grupo. Nos espécimes do grupo controle, mantidos vazios ou preenchidos com solução salina por 3 ou 7 meses, as reações observadas foram

predominantemente ausentes/leves. A análise histoquímica evidenciou que, na presença de reação inflamatória, as células do osso apical e periapical aumentaram sua atividade enzimática, sugerindo atividade reabsorvedora e demonstrando que o LPS induziu a destruição óssea, *in vivo*. Nos dentes do grupo controle, as reações enzimáticas foram muito leves.

Dwyer & Torabinejad,³⁷ em 1981, efetuaram um estudo com o objetivo de avaliar radiográfica e histologicamente o efeito da endotoxina sobre os tecidos periapicais de dentes de gatos, utilizando a endotoxina de *Escherichia coli* 0111:B4 liofilizada. Uma porção da endotoxina foi neutralizada com NaOH 0,2M, a 37°C, por 24 horas, e novamente liofilizada. Ambas as preparações de endotoxina foram dissolvidas em solução salina esterilizada, nas concentrações de 100µg/mL, 10µg/mL e 1µg/mL. Caninos maxilares e mandibulares foram isolados e suas polpas extirpadas, em seguida as soluções de LPS foram injetadas nos canais radiculares e as cavidades seladas. Após períodos de 2, 4 e 6 semanas, os gatos foram mortos por sobredose de anestésico, os blocos contendo os caninos foram removidos, radiografados e submetidos ao processamento histológico. Cortes seriados de 6µm de espessura foram corados pela hematoxilina e eosina, e analisados histopatologicamente. As radiografias de cada espécime foram montadas em um projetor, e o contorno das lesões radiográficas foi traçado em

folhas de plásticos. As lesões foram então medidas utilizando-se uma grade de plástico milimetrada, e classificadas, das maiores para as menores, em graus 1, 2, 3 e 4. Os valores foram submetidos à análise estatística, para determinação de diferenças entre tratamentos. Os resultados da análise radiográfica evidenciaram áreas radiolúcidas relativamente extensas nos dentes em que foi injetada a endotoxina pura, em todos os períodos de tempo. Por outro lado, nos dentes que utilizaram a solução salina ou a endotoxina inativada, as áreas radiolúcidas periapicais eram muito pequenas ou ausentes. De acordo com a análise estatística houve diferença entre os tratamentos, porém não houve diferença entre as 3 concentrações de endotoxina testadas. De acordo com os resultados histopatológicos, a inflamação foi mais intensa nos dentes que receberam a endotoxina pura, quando comparada aqueles preenchidos com solução salina ou endotoxina inativada. O infiltrado inflamatório consistiu, basicamente de neutrófilos, com presença também de macrófagos, plasmócitos e linfócitos. Osteoclastos foram observados com freqüência, na periferia do tecido ósseo circundante, o qual se apresentava reabsorvido. A técnica de imunodifusão dupla não demonstrou a formação de anticorpos no soro colhido. Concluíram que a endotoxina, indiretamente, toma parte na iniciação e perpetuação das reações periapicais.

Pitts et al.,¹¹² em 1982, avaliaram o efeito da endotoxina de *Salmonella minnesota* R-595, em solução salina esterilizada, na concentração de 1 mg/mL, sobre os tecidos apicais e periapicais de dentes de cães. Foram utilizados 16 dentes, onde após exame radiográfico padronizado, foi realizada anestesia, isolamento absoluto com dique de borracha, abertura coronária e pulpectomia. Após a realização da odontometria, 12 dentes foram instrumentados no nível do delta apical, com limas tipo K e solução salina como solução irrigadora. Os quatro dentes restantes foram submetidos ao arrombamento apical, com brocas de Gates-Glidden de tamanhos 1 e 3. O arrombamento foi confirmado introduzindo-se uma lima tipo K, estendendo-se além do ápice radiográfico. Metade dos canais radiculares de cada grupo foi preenchida com 0,1mL da solução de endotoxina, com agulha hipodérmica e seringa descartável, e os demais preenchidos com solução salina. Um dente foi instrumentado e mantido vazio (controle). Os dentes foram restaurados com amálgama de prata, sobre uma base de cimento de óxido de zinco e eugenol, sendo realizadas tomadas radiografias pós-operatórias. Semanalmente, as soluções (endotoxina ou salina) foram renovadas no interior dos canais radiculares. Decorrido o período experimental de 4 semanas para os dentes submetidos ao arrombamento apical, e 5 semanas para os demais, os cães foram mortos, radiografados e as peças submetidas ao processamento histológico. Os cortes, com 6 µm de espessura, foram corados pela hematoxilina e eosina. A análise

radiográfica evidenciou lesões pobremente circunscritas, difusas em sua maioria. Os dentes submetidos ao arrombamento apical e preenchidos com endotoxina apresentaram alterações radiográficas na região periapical mais precocemente, e em grau mais severo, que os dentes preenchidos com solução salina. Por outro lado, os dentes não arrombados, preenchidos com endotoxina, apresentaram alterações radiográficas mínimas ou ausentes, de forma semelhante àqueles preenchidos com solução salina. O grupo controle, apenas instrumentado e mantido vazio, não apresentou alterações radiográficas. Observaram, durante a análise histopatológica, que os dentes arrombados e preenchidos com endotoxina apresentaram maiores áreas de reabsorção óssea periapical, reabsorção radicular e reação inflamatória com predomínio de neutrófilos, ou seja, a reação foi mais intensa nos dentes arrombados e preenchidos com salina. As raízes não arrombadas e preenchidas com endotoxina, bem como as raízes instrumentadas e mantidas vazias apresentaram inflamação periapical mínima. Concluíram que as endotoxinas podem desempenhar um papel de fundamental importância na inflamação óssea periapical.

Com o objetivo de analisar os efeitos da endotoxina sobre os tecidos periapicais de dentes de cães, Mattison et al.,⁹⁰ em 1987, utilizaram endotoxina de *Eikenella corrodens* cepa 23834, e de *Escherichia coli* 055:B5, diluídas em água destilada, na concentração de

10µg/mL. Após exame radiográfico periapical, 28 dentes (56 raízes) de 7 cães, foram submetidos à abertura coronária, pulpectomia e odontometria, 0,5 mm aquém do ápice radiográfico, sob anestesia e isolamento absoluto do campo operatório. Após o preparo biomecânico, utilizando-se a água destilada como solução irrigadora, as raízes foram submetidas ao arrombamento, 1mm além do ápice radiográfico, com uma lima de número 20. Os canais radiculares foram irrigados e secos com pontas de papel absorvente. Utilizando agulhas e seringas descartáveis de 1 mL, 42 raízes foram preenchidas com 0,1 mL de endotoxina de *E. corrodens*, 8 raízes com endotoxina de *E. coli* e 6 raízes com água destilada. A câmara pulpar foi selada com cimento à base de óxido de zinco e eugenol. Este procedimento foi repetido, semanalmente, por 4 semanas. Radiografias e colheita de amostras de sangue dos animais, para análise dos níveis de anticorpos para *E. corrodens*, foram efetuadas por 12 semanas. Ao final do experimento, 1 animal foi morto por sobredose de anestésico, os blocos contendo as raízes em estudo foram removidos e submetidos ao processamento histológico. Os cortes, com 6µm de espessura, foram corados pela hematoxilina e eosina. Os resultados da análise radiográfica, evidenciaram áreas radiolúcidas bem circunscritas. As 6 raízes preenchidas com água, por 4 semanas, apresentaram leve espessamento do ligamento periodontal. A análise histopatológica evidenciou reação inflamatória mais severa nos dentes preenchidos com endotoxina de *E. corrodens* e *E. coli*, quando

comparados aos dentes preenchidos apenas com água. Quando a endotoxina de *E. corrodens* foi utilizada, observaram reabsorção óssea periapical e reabsorção radicular externa significantes, proliferação vascular, edema e infiltrado inflamatório mais intenso nas regiões centrais, com abundância de neutrófilos. Perifericamente, o processo inflamatório era predominantemente do tipo crônico, com linfócitos e plasmócitos. A análise imunológica não evidenciou a formação de anticorpos no soro dos cães, durante todo período experimental. Os resultados deste estudo sugerem que a iniciação e perpetuação da inflamação e da reabsorção óssea periapical em dentes infectados podem ser mediadas pela endotoxina da microbiota gram-negativa.

Horiba et al.,⁶⁰ em 1991, avaliaram a correlação entre a quantidade de endotoxinas e sinais e sintomas clínicos, tais como, dor espontânea, dor à percussão, exsudação e áreas radiolúcidas periapicais. Observaram que as endotoxinas estavam presentes em todos os dentes sintomáticos e em 28,6% dos dentes assintomáticos, com diferença altamente significativa, uma vez que nos dentes com sintomatologia, a concentração de endotoxina foi de $8,7 \pm 4,7 \mu\text{g/mL}$, enquanto que nos dentes assintomáticos foi de $0,7 \pm 1,6 \mu\text{g/mL}$. Endotoxina foi detectada em 86,4% dos dentes com áreas radiolúcidas e somente em 12,5% dos dentes sem radiolucidez periapical, com diferença estatisticamente significativa. Em 95% dos dentes com exsudação, detectaram altos níveis de endotoxina, em comparação aos dentes sem exsudação.

Horiba et al.,⁶¹ em 1992, avaliaram a velocidade de ativação do fator C3 do sistema complemento, frente aos lipopolissacarídeos de bactérias isoladas de canais radiculares. Alíquotas de 0,1 mL de solução contendo 1.000, 500, 100 e 10 µg de extrato de LPS obtido de *Porphyromonas gingivalis*, *Veillonella parvulla* e *Fusobacterium nucleatum* foram adicionadas a 0,4mL de soro humano liofilizado, numa concentração final de 100, 50, 10 e 1µg de LPS. A endotoxina de *Escherichia coli* foi usada como padrão e a solução salina serviu como controle negativo. De acordo com os resultados obtidos, a ativação do fator C3T foi maior que 60 e 70% quando 50 ou 100µg de LPS das 4 espécies bacterianas foram adicionados ao soro humano, não havendo diferenças entre os vários lipopolissacarídeos. Esse comportamento dos diferentes LPS à luz dos conhecimentos atuais foi algo surpreendente, visto que essas substâncias não são idênticas, havendo relatos na literatura de que as respostas biológicas diferem em relação aos diferentes tipos de LPS. Consideraram que essa similaridade de resposta observada deva-se à ativação do fator C3T pela porção antígeno-O do LPS de cada bactéria.

Yoshinuma et al.,¹⁶⁹ em 1994, avaliaram *in vitro*, o efeito da endotoxina obtida de bolsas periodontais, por meio de irrigação com solução salina e, endotoxina adquirida comercialmente, sobre culturas de células humanas obtidas de carcinoma bucal (Ca 9-22) e fibroblastos

gingivais. Às células em concentração de 5×10^3 /mL, adicionaram 5, 50 e 500 μ g/mL de endotoxina. Após 24 horas de inoculação das linhagens de células, mensuraram a concentração de células. As endotoxinas controle foram obtidas de *Escherichia coli* 011:B4, *Escherichia coli* 055:5B, *Salmonella typhimurium* e *Salmonella enteritidis*. Observaram que o número de células Ca9-22 e fibroblastos humanos diminuíram significativamente na presença da endotoxina de *E. coli*, na concentração de 500 μ g/mL. Contudo, na concentração de 5 μ g/mL, a citotoxicidade da endotoxina obtida das bolsas periodontais foi superior. Portanto, ambas as endotoxinas apresentaram citotoxicidade, quantitativamente diferentes, confirmando que o potencial tóxico do LPS é particular a cada tipo de bactéria.

Kumada et al.,⁷¹ em 1995, isolaram o lípide A do lipopolissacarídeo de *Porphyromonas gingivalis*, e sua estrutura química analisada por meio de análise composicional, espectrometria de massa e ressonância magnética nuclear. Verificaram que esta parte da molécula é composta por ácidos graxos com 15 a 17 átomos de carbono, ligados a duas moléculas de amino-açúcares (glicosaminas), às quais se ligam dois radicais fosfato. Nesse último, liga-se um resíduo de proteína. Consideram que as posições dos radicais fosfato, assim como o número, tipo e sítio de ligação parecem determinar a patogenicidade dos diferentes lipopolissacarídeos.

Em 1995, Nissan et al.,¹⁰³ avaliaram a capacidade de difusão da endotoxina bacteriana (LPS) através da dentina humana. Foram selecionados cinco terceiros molares humanos, nos quais foram preparadas cavidades, uma oclusal e uma pulpar, separadas por 0,5 mm de dentina. Após a remoção da camada residual e lavagem, aplicaram 0,1mL de solução contendo 100µg/mL de endotoxina, extraída de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Nos períodos de 15 e 30 minutos e posteriormente a cada 30 minutos, até completar 5 horas e 24 horas de difusão, o conteúdo era colhido na cavidade pulpar e avaliado com relação à presença de endotoxina. Em uma amostra não detectou-se endotoxina na cavidade pulpar, durante 24 horas. Nas amostras restantes, o conteúdo de endotoxina continuou a difundir-se de forma variável para a cavidade pulpar, durante o experimento. Assim, em duas amostras, observaram um nível constante de fluxo, a partir de 4:30 e 5 horas, enquanto nas duas amostras restantes a concentração de endotoxina aumentou progressivamente. Consideraram que os fatores responsáveis pela variação na permeabilidade foram o peso molecular da endotoxina, bem como sua capacidade de ligação à dentina, como comprimento, diâmetro, densidade, direção e presença ou ausência de esclerose dentinária e dentina reparadora.

Ito et al.,⁶³ em 1996, avaliaram a ação dos lipopolissacarídeos de *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e do lipídeo A sintético de *Escherichia coli*, em promover a diferenciação osteoclástica *in vitro*, de células da medula óssea de camundongos C3HH-H e N reagentes e C3H/H e J não reagentes. Verificaram que as endotoxinas de *P. gingivalis*, *P. intermedia* e *A.a.* estimularam as células C3H-H e N, enquanto somente as endotoxinas de *P. gingivalis* e *P. intermedia* induziram a proliferação de células C3H-H e J. O LPS do *A.a.* mostrou apenas um efeito leve. As células C3H-H e N contendo 1,25 diidroxivitamina D3 associada a dexametasona, às quais foram adicionadas várias doses de LPS de todas as bactérias, inclusive lipídeo A sintético, evidenciaram formação de grandes números de células multinucleadas, com reação positiva para enzima fosfatase tartrato-resistente, enquanto nenhum dos LPS acima foram capazes de estimular células C3H-H e J a transformarem-se em osteoclastos. Verificaram que a adição da polimixina B, em doses de 5 a 10µg/mL à cultura de células C3H-H e N, eliminou completamente o efeito promotor da diferenciação, sem causar qualquer efeito citotóxico. Consideraram que a capacidade de estimular a diferenciação osteoclástica pelos lipopolissacarídeos (LPS), possa acontecer de forma direta sobre as células progenitoras dos osteoclastos ou através de mediadores solúveis, como as citocinas.

O óxido nítrico atua na modulação da resposta inflamatória, possuindo papel tanto inflamatório como protetor, Blix & Helgeland²⁰ em 1998, estudaram o efeito de LPS extraído de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, na síntese de NO em cultura de macrófagos de murino. O LPS de *A. actinomycetemcomitans* induziram uma significativa produção de NO, mesmo em concentrações inferiores a 1 ng/mL, enquanto que o LPS de *E. coli* necessitou de concentrações de 100ng/mL para obter efeitos similares.

C. Da inativação da endotoxina bacteriana pelas soluções irrigadoras

No ano de 1982, Buttler & Crawford,²⁵ estudaram a ação da solução de hipoclorito de sódio em três diferentes concentrações (0,58, 2,7 e 5,2%) na inativação de duas endotoxinas provenientes da *Escherichia coli* e da *Salmonella typhosa*. A avaliação foi realizada após o contato das soluções de hipoclorito de sódio com as endotoxinas por uma hora à temperatura ambiente. Os resultados obtidos revelaram que todas as concentrações da solução de hipoclorito de sódio não foram efetivas na completa inativação das endotoxinas estudadas (na concentração de 100 ng/mL de solução). Um procedimento posterior *in vivo* foi realizado para avaliar a ação da solução de hipoclorito de sódio em quantidades maiores de endotoxinas. Os resultados indicaram que, com 1 mL das soluções de hipoclorito de sódio a 0,58 ou 2,7%, não houve inativação de grande quantidade de endotoxina da *Escherichia coli* (concentração de 2 µg/mL), sendo que os dados relacionados ao hipoclorito de sódio na concentração de 5,2% não foram conclusivos.

Aibel & Stevens², em 1999, estudaram em cultura de células o efeito da clorexidina na produção de IL-6 por macrófagos de camundongos. A mensuração da interleucina produzida por células estimuladas por LPS não tratado e por LPS tratado com clorexidina, foram realizadas utilizando-se o teste ELISA. Houve diminuição da produção de IL-6 nos grupos tratados com a clorexidina, porém o tratamento não causou inativação do LPS.

Buck et al.,²⁴ em 2001, avaliaram o efeito de soluções irrigadoras endodônticas e do hidróxido de cálcio sobre a endotoxina bacteriana, usando uma técnica altamente seletiva de espectrometria de massa e cromatografia gasosa com monitoração de íons selecionados. Solução aquosa de endotoxina foi misturada com uma variedade de soluções irrigadoras endodônticas, por 30 minutos. Por ser comumente utilizado como curativo de demora, o hidróxido de cálcio foi associado ao LPS por 1, 2 ou 5 dias. A inativação do LPS foi medida pela quantificação dos ácidos graxos livres liberados. Água, EDTA, etanol, solução de clorexidina a 0,12% + hipoclorito de sódio e solução de hipoclorito de sódio somente mostraram pouca quebra de LPS. A ação por longos períodos do hidróxido de cálcio sobre o LPS, bem como 30 minutos de exposição à uma mistura alcalina de clorexidina, etanol e hipoclorito de sódio inativaram o LPS pela hidrólise das ligações éster na cadeia de ácidos graxos do lípide A.

D. Da inativação da endotoxina bacteriana pelo hidróxido de cálcio.

Safavi & Nichols,¹²¹ em 1993, realizaram um estudo para avaliar a ação do hidróxido de cálcio sobre o LPS bacteriano *in vitro*. Uma suspensão aquosa de LPS de *Salmonella typhimurium* (30 µg/mL) foi adicionada a 25 mg/mL de hidróxido de cálcio p.a., agitada por 20 segundos e incubada a 37°C. Decorridos 7 dias, a quantidade de ácidos graxos livres foi quantificada, utilizando a cromatografia gasosa. Uma suspensão de LPS puro foi utilizada como controle positivo, e a água como controle negativo. Observaram que o tratamento do LPS com hidróxido de cálcio levou à liberação de elevadas quantidades de ácidos graxos. Concluíram que o hidróxido de cálcio foi capaz de hidrolizar a molécula da endotoxina bacteriana, resultando na liberação de ácidos graxos livres, sugerindo que tal ocorrência possa desempenhar um papel de fundamental importância nos excelentes resultados obtidos da utilização do hidróxido de cálcio como curativo de demora durante o tratamento endodôntico.

Safavi & Nichols¹²² em 1994, partindo do conhecimento de que o hidróxido de cálcio hidrolisava a molécula da endotoxina, avaliaram se os componentes liberados durante essa reação apresentavam toxicidade ou não, em culturas de células. As endotoxinas bacterianas de *Salmonella typhimurium* e *Prevotella intermedia* ATCC

33563 foram preparadas nas concentrações de 10ng/mL a 1µg/mL. Alíquotas dessas endotoxinas foram misturadas com uma suspensão aquosa de hidróxido de cálcio (25mg/mL). A endotoxina pura ou associada ao hidróxido de cálcio foi adicionada a culturas de monócitos humanos, e a mistura incubada por 24 horas. Decorrido esse período, o sobrenadante da cultura foi colhido, e o seu conteúdo de prostaglandinas E2 (PGE2) foi analisado. Os níveis de PGE2 no sobrenadante das culturas de monócitos estimuladas com endotoxina de *S. typhimurium* foram substancialmente mais altos que aqueles da *P. intermedia*. Não recuperaram PGE2 das culturas de monócitos estimuladas com endotoxina tratada com hidróxido de cálcio. Concluíram que o tratamento com hidróxido de cálcio pode alterar as propriedades biológicas do LPS bacteriano. Assim, o uso do hidróxido de cálcio, como medicação endodôntica entre sessões, pode resultar na inativação do LPS residual, presente no sistema de canais radiculares de dentes infectados.

A capacidade do hidróxido de cálcio de neutralizar a atividade biológica tóxica da endotoxina bacteriana foi avaliada, *in vitro*, por Barthel et al.,¹³ em 1997. Endotoxina liofilizada de *Escherichia coli* 055:B5 foi dissolvida em água esterilizada, nas concentrações de 1 ngmL⁻¹, 10ngmL⁻¹, 100ngmL⁻¹ e 1000ngmL⁻¹. Adicionaram, em metade das amostras, 25mg de hidróxido de cálcio p.a., resultando em uma solução saturada. A água esterilizada, associada ou não ao hidróxido de cálcio,

foi utilizada como controle. Todas as amostras foram incubadas a 37°C por 1 semana, quando o hidróxido de cálcio insolúvel foi removido por centrifugação a 2000 rpm, por 5 minutos, e o sobrenadante coletado. Monócitos do sangue periférico de um doador saudável foram obtidos e plaqueados na densidade de 4×10^6 células mL⁻¹. Os monócitos aderentes foram incubados por 4 dias, a 37°C, com 5% de CO₂, em meio M199 com 10% de soro autólogo. As diferentes soluções a serem testadas foram adicionadas aos poços no 5º dia. Após 4 horas, o sobrenadante foi colhido, para análise quantitativa de Fator de Necrose Tumoral- α (TNF- α), utilizando um kit comercial para uso no teste ELISA. Os níveis TNF- α variaram de 1-9 pgmL⁻¹ nos grupos controle, (sem a adição do LPS). Quando os monócitos foram expostos às diferentes concentrações de LPS puro, os níveis de TNF- α observados estiveram entre 870 e 1800 pgmL⁻¹. Entretanto, quando o hidróxido de cálcio foi adicionado às soluções contendo LPS, os níveis de TNF- α resultantes estavam entre 5-19 pgmL⁻¹. Concluíram que o hidróxido de cálcio foi capaz de inativar, *in vitro*, o LPS bacteriano, uma vez que, neste estudo, a capacidade da endotoxina de *E. coli* de estimular a produção de TNF- α em culturas de monócitos foi eliminada.

Em 1999, Olsen et al.,¹⁰⁵ avaliaram o efeito do hidróxido de cálcio sobre o LPS bacteriano, utilizando um modelo experimental *in vitro*. Alíquotas de sangue total humano foram colocadas em contato com

LPS de *Pseudomonas aeruginosa*, nas concentrações de 1000 ng/mL, 100ng/mL, 10ng/mL e 1 ng/mL e, em seguida, tratadas com uma solução saturada de hidróxido de cálcio, por períodos de tempo variando de 10 minutos a 24 horas, num total de 48 experimentos, em triplicata. Amostras de sangue colocadas em contato com LPS não exposto ao hidróxido de cálcio foram utilizadas como controle positivo, enquanto que uma solução saturada de hidróxido de cálcio, adicionada ao sangue total, serviram como controle negativo. As concentrações de IL-1 β liberadas pelos monócitos foram medidas no sobrenadante pelo teste ELISA. Os resultados obtidos evidenciaram que o hidróxido de cálcio reduziu a produção de IL-1 β , em todos os períodos de tempo. No grupo do LPS, os níveis de IL-1 β detectados variaram de 300-1500 pg/mL, enquanto que no grupo do LPS tratado com hidróxido de cálcio esses níveis foram semelhantes aos do controle negativo, na ordem de 10-20 pg/mL. Concluíram que a ação do LPS foi inibida pelo hidróxido de cálcio, uma vez que observaram uma drástica diminuição da liberação de IL-1 β pelos monócitos, em todos os períodos de tempo.

Nelson Filho,¹⁰¹ em 2000, avaliou, *in vivo*, o efeito da endotoxina (LPS) associada ou não ao hidróxido de cálcio, sobre os tecidos apicais e periapicais de dentes de cães, por meio de avaliação histopatológica. Foram utilizadas 59 raízes de pré-molares de 3 cães que, após abertura coronária e biopulpectomia, foram preenchidas, por 30

dias, com diferentes materiais, de acordo com os seguintes grupos: Grupo I: LPS; Grupo II: LPS/hidróxido de cálcio; Grupo III: soro fisiológico; Grupo IV: lesões periapicais experimentalmente induzidas. Decorrido o período experimental, os animais foram sacrificados, as peças removidas e submetidas ao processamento histológico. Verificou-se que a intensidade do infiltrado inflamatório, a espessura do ligamento periodontal e a presença de reabsorções cementárias, dentinárias e ósseas no Grupo I (LPS) foram semelhantes ao Grupo IV (indução experimental de lesões periapicais), enquanto que no Grupo II (LPS/hidróxido de cálcio) foram semelhantes ao Grupo III (soro fisiológico). Concluiu-se que a endotoxina bacteriana (LPS) ocasionou o desenvolvimento de reação periapical, e que o hidróxido de cálcio foi capaz de inativar os efeitos tóxicos da mesma, *in vivo*.

Buck et al.,²⁴ em 2001, avaliaram o efeito de soluções irrigadoras endodônticas e do hidróxido de cálcio sobre a endotoxina bacteriana, usando uma técnica altamente seletiva de espectrometria de massa e cromatografia gasosa com monitoração de íons selecionados. Solução aquosa de endotoxina foi misturada com uma variedade de soluções irrigadoras endodônticas, por 30 minutos. Por ser comumente utilizado como curativo de demora, o hidróxido de cálcio foi associado ao LPS por 1, 2 ou 5 dias. A inativação do LPS foi medida pela quantificação dos ácidos graxos livres liberados. Água, EDTA, etanol, solução de

clorexidina a 0,12% + hipoclorito de sódio e solução de hipoclorito de sódio somente mostraram pouca quebra de LPS. A ação por longos períodos do hidróxido de cálcio sobre o LPS, bem como 30 minutos de exposição à uma mistura alcalina de clorexidina, etanol e hipoclorito de sódio inativaram o LPS pela hidrólise das ligações éster na cadeia de ácidos graxos do lípide A.

Queiroz,¹¹³ em 2001 avaliou a capacidade do hidróxido de cálcio em neutralizar o LPS de *Pseudomonas aeruginosa*, através de duas metodologias, a liberação de óxido nítrico e o Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) em cultura de macrófagos peritoneais de camundongos. O autor concluiu que o LPS bacteriano é um potente estimulador da produção de NO e TNF- α e que o tratamento do LPS com hidróxido de cálcio causou sua inativação.

Proposição

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito sobre os tecidos apicais e periapicais de dentes de cães do preparo biomecânico dos canais radiculares coadjuvado por diferentes soluções irrigadoras, assim como da pasta de hidróxido de cálcio empregada como curativo de demora, em canais radiculares que receberam previamente LPS bacteriano após remoção do tecido pulpar.

Material e método

Foram utilizados sete cães, de ambos os sexos, sem raça definida, com aproximadamente um ano a um ano e meio de idade e pesando entre 10 e 15 Kg. Anteriormente às intervenções endodônticas, os animais permaneceram por um período de 30 a 45 dias, sob os cuidados relacionados à dieta e vacinas. Nesta fase e durante todo o experimento, os mesmos foram mantidos no Biotério da Faculdade de Odontologia de Araraquara-Câmpus-UNESP.

Os dentes utilizados para o estudo foram os segundos, terceiros e quartos pré-molares inferiores e segundos e terceiros pré-molares superiores, totalizando 70 dentes, ou 140 raízes divididas em 7 grupos experimentais de 20 raízes cada, distribuídos de tal forma que quatro diferentes grupos fossem testados em cada animal em sistema de rodízio de quadrantes e distribuição dos grupos entre os animais.

Para cada intervenção, os animais foram pré-anestesiados com injeção intramuscular de 2 mL de Rompum (Cloridrato de dihidroiazina – Bayer do Brasil S/A – São Paulo-SP) e, posteriormente, anestesiados por via endovenosa, com Thiopental Sódico a 3% (Abott do Brasil Ltda. – São Paulo-SP), na dosagem de 30 mg/kg de peso do animal. Durante toda a intervenção cirúrgica, o animal foi mantido com uma solução isotônica de cloreto de sódio (Darrow Lab. S/A – São Paulo-

SP), administrada endovenosamente e, quando necessária, realizou-se a complementação anestésica.

Após a anestesia, foram efetuadas radiografias periapicais para avaliação e seleção dos dentes. A seguir, após limpeza mecânica das coroas dentais com curetas periodontais e gaze esterilizada, foi realizada a anestesia terminal infiltrativa na área periapical dos dentes envolvidos, empregando-se o anestésico Novocol/100 (S.S. White Artigos Dentários Ltda., Rio de Janeiro, RJ). Os dentes foram isolados com dique de borracha, seguido da anti-sepsia do campo operatório com álcool 70% e 0,3% de iodo e neutralização com álcool/éter (partes iguais).

As aberturas coronárias foram realizadas com pontas diamantadas esféricas número 1013 e 1015 (K.G. Sorensen – São Paulo – SP), em turbina de alta velocidade refrigerada a ar e água, de modo a serem obtidas duas aberturas, uma mesial e outra distal, mantendo-se a ponte de esmalte com a finalidade de evitar fraturas coronárias. As aberturas oclusais foram completadas com pontas diamantadas tronco-cônicas de extremidade inativa número 3081 (K.G. Sorensen – São Paulo-SP), também em alta rotação.

Baseado nas radiografias para diagnóstico, e após irrigação da câmara pulpar com soro fisiológico, efetuou-se a exploração do canal radicular com uma lima tipo K nº15 (Dentsply Maillefer S/A – Suíça), até o nível do platô apical, o qual localiza-se normalmente a 2mm

do ápice radiográfico. Com a mesma lima, a polpa radicular foi deslocada e, posteriormente, removida com uma lima tipo Hedström (Dentsply Maillefer S/A – Suíça), de tamanho compatível com o diâmetro do canal radicular.

Após inundação do canal radicular com soro fisiológico e com base na radiografia para diagnóstico, foi realizada a tomada radiográfica para odontometria, determinando-se o Comprimento Real de Trabalho (C.R.T.), o qual se localizava aproximadamente 2 mm aquém do Comprimento Real do Dente (C.R.D.).

A seguir foi realizado o arrombamento do delta apical com limas tipo K de nºs 20, 25 e 30, utilizadas seqüencialmente, para a padronização do diâmetro da abertura apical dos dentes estudados sendo a lima tipo K número 30 considerada como o Instrumento Apical Foraminal (I.A.F.). Após o arrombamento apical foi realizado o preparo biomecânico, utilizando-se limas tipo K no Comprimento Real de Trabalho, através da técnica clássica de instrumentação. Os canais radiculares foram instrumentados, a partir do Instrumento Apical Inicial (I.A.I.) até o de nº40. A cada troca de instrumento foram realizadas irrigação/aspiração/inundação do canal radicular com 3,6 mL de soro fisiológico. Para irrigação dos canais radiculares, a solução foi armazenada em tubetes de anestésico esterilizados, sendo empregada seringa carpule provida de agulha descartável G27 longa (Gengibrás – 27G Ibras CBO – Ind. Bras., São Paulo – SP). Ao término do preparo

biomecânico, uma lima tipo K n°30 foi novamente utilizada, no Comprimento Real do Dente, para remoção de possíveis raspas de dentina acumuladas na região da abertura apical durante o preparo biomecânico e os canais radiculares foram secos com pontas de papel absorventes esterilizadas e inundados, a seguir, com solução de ácido etilenodiaminotetracético, (EDTA Trissódico – Biodinâmica Química e Farmacêutica Ltda. – São Paulo – SP) durante 3 minutos, agitada pela última lima utilizada. Após este período, os canais radiculares foram copiosamente irrigados com soro fisiológico, secos com pontas de papel absorventes esterilizadas e a seguir, preenchidos com uma solução de LPS e soro fisiológico na concentração de 10 mg/mL, conforme descrito por Nelson Filho (2000),¹⁰¹ sendo mantida no canal radicular por um período de 10 dias.

Preparo da solução de LPS

No fluxo laminar, um frasco contendo 100 mg de endotoxina de *Escherichia coli* (Lipopolysaccharide B *E. coli* 055:B5 – Lipid A 9.20% - Difco – Bacto – Detroit – Michigan – USA) foi diluído em 10 mL de Solução Salina Tamponada Fosfatada (PBS), originando uma solução na concentração de 10 mg/mL.

Um volume de 5 mL dessa solução foi colocado em frascos tipo ependorfs (Corning – Mundial Química – Ribeirão Preto-SP), os quais foram mantidos em freezer a, aproximadamente, -70°C, até o momento da utilização da solução.

Após o preenchimento dos canais radiculares com a solução de LPS, o selamento das aberturas coronárias foi realizado com cimento de óxido de zinco e eugenol (Pulposan – S.S. White Artigos Dentários Ltda., Rio de Janeiro, RJ) sobre uma mecha de algodão esterilizada colocada na câmara pulpar. Em seguida, foi administrada uma ampola de 3 mL de Diclofenaco sódico injetável (Voltaren® - Novartis Biociências S.A., Taboão da Serra, SP) intramuscular na concentração de 75mg.

Preparo biomecânico dos canais radiculares

Decorrido o período de dez dias, os animais foram novamente anestesiados e os dentes isolados, seguindo os passos descritos anteriormente, e o selamento coronário removido. Após nova anti-sepsia do campo operatório, os 140 canais radiculares foram divididos em 7 grupos, de 20 raízes cada, conforme descritos no Quadro 1.

Quadro 1 - Distribuição dos grupos experimentais de acordo com os procedimentos realizados.

GRUPO	PROCEDIMENTO
I	Preparo biomecânico codjuvado com Solução de hipoclorito de sódio a 1,0%.
II	Preparo biomecânico coadjuvado com Solução de hipoclorito de sódio a 2,5%.
III	Preparo biomecânico coadjuvado com Solução de hipoclorito de sódio a 5%.
IV	Preparo biomecânico coadjuvado com Solução de digluconato de clorexidina a 2%.
V	Preparo biomecânico coadjuvado com Soro fisiológico (Darrow Lab. S/A – São Paulo).
VI	Manutenção da solução de LPS (sem preparo biomecânico).
VII	Preparo biomecânico coadjuvado com soro fisiológico e emprego de pasta de hidróxido de cálcio - Calen(S.S. White – Artigos Dentários Ltda., Rio de Janeiro, R.J)

As soluções dos Grupos I a IV foram dosadas e preparadas no Instituto de Química de Araraquara-UNESP.

Os canais radiculares de cada grupo foram preparados pela técnica clássica no C.R.T. utilizando as limas tipo K nº40 até a de nº70 para os dentes inferiores e o de nº 60 para os dentes superiores, pela técnica clássica. A cada troca de instrumento, foi realizada irrigação/aspiração/inundação do canal radicular com 3,6 mL de cada solução em estudo. Ao término do preparo biomecânico, uma lima tipo K nº30 foi novamente utilizada, no Comprimento Real do Dente, para remoção de possíveis raspas de dentina acumuladas na região da abertura apical, durante o preparo biomecânico.

Após o término do preparo biomecânico, os canais radiculares foram secos com pontas de papel absorvente esterilizadas e inundados com EDTA, durante 3 minutos, sob agitação, com o emprego da última lima utilizada no preparo biomecânico. Em seguida, foi realizada nova irrigação com as respectivas soluções em estudo, as quais foram mantidas nos canais radiculares durante 60 dias. No Grupo VII, onde foi utilizada a pasta Calen (S.S. White Artigos Dentários Ltda., Rio de Janeiro, RJ), o preparo biomecânico foi realizado utilizando soro fisiológico como solução irrigadora e após secagem com pontas de papel absorvente esterilizadas (Tanari Industrial Ltda., Manaus, AM) e emprego da solução de EDTA, os canais radiculares foram preenchidos com uma pasta à base de hidróxido de cálcio (Calen – S.S. White Artigos dentários Ltda., Rio de Janeiro, RJ), empregando-se a seringa especial com êmbolo rosqueável (ML – S.S. White Artigos dentários Ltda., Rio de Janeiro, RJ), provida de agulha longa calibre 27 (Gengibrás – 27G Ibras CBO Ind. Bras., SP). A composição da pasta Calen é a seguinte:

Hidróxido de cálcio p.a.....	2,5 g
Óxido de zinco	0,5 g
Colofônio	0,05 g
Polietilenoglicol 400.....	2,0 mL

Em todos os grupos, as aberturas coronárias foram seladas com amálgama de prata, condensado sobre uma base de cimento de policarboxilato de zinco (Durelon-ESPE-Germany), depositada sobre uma mecha de algodão esterilizada na câmara pulpar.

No grupo VI, após preenchimento dos canais radiculares com solução de LPS, na primeira sessão, os procedimentos de condensação do amálgama foram realizados, sendo a solução de LPS mantida nos canais radiculares. Decorridos 60 dias do preparo biomecânico, ou 70 dias da colocação de LPS no grupo VI, os animais foram mortos por sobredose anestésica. As maxilas e mandíbulas foram removidas e as peças fixadas em solução de cacodilato de sódio em associação com sacarose e glutaraldeído (Soares, 1999).¹³⁷

Depois de fixadas, as peças foram lavadas, radiografadas, recortadas em pequenos blocos, contendo cada raiz e tecidos adjacentes. Para a desmineralização, as peças foram imersas em solução desmineralizadora à base de EDTA e submetidas à exposição em forno de microondas (Continental Aw 42 – B.S. Continental S.A. Utilidades Domésticas – São Paulo, SP) ajustado na potência 2 e com tempo de exposição de 4 minutos. Após cada exposição, a temperatura da solução foi verificada, de modo a mantê-la entre 30 e 36°C. A cada seis exposições, as peças foram agitadas em solução tampão de cacodilato de sódio (fixadora) e imersas em nova solução desmineralizadora, repetindo-se exposições até que a completa desmineralização fosse observada. O período necessário para o processo de desmineralização foi de 15 a 20 dias e a constatação foi feita por meio de tomada radiográfica das peças.

Composição da solução fixadora (para 1 litro)

Solução aquosa de glutaraldeído a 25%	50 mL
Sacarose	5 g
Solução tamponada de cacodilato de sódio (pH 7,4)	1L
Solução de hidróxido de sódio 0,1N	qsp

Composição da solução desmineralizadora:

Sal EDTA dihidratado	93,05 g
Solução aquosa de glutaraldeído 25%	20mL
Sacarose	34,25 g
Solução tamponada de cacodilato de sódio (pH7,4)	280 mL
Água destilada	200mL
Solução de hidróxido de sódio 0,1N	qsp
pH final da solução	7,4

Constatada a desmineralização, as peças foram submetidas à rotina histológica, sendo lavadas em água corrente por 24 horas, desidratadas em álcool de concentrações crescentes, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Os blocos contendo a raiz disposta longitudinalmente, foram reduzidos para facilitar a microtomia, quando então obteve-se cortes seriados com espessura de 6 micrômetros. Para a análise histopatológica, os cortes foram corados usando-se Hematoxilina e Eosina (HE) e Tricrômico de Mallory.

Método de Avaliação Histopatológica

O material corado pelo HE foi analisado empregando-se fotomicroscópio binocular (Olympus BX50, Tokyo, Japan). Foram avaliados de forma subjetiva, por meio de escores, os seguintes aspectos:

a) Intensidade do infiltrado inflamatório periapical:

- 0 - ausente/suave
- 1 - moderado
- 2 - severo

b) Espaço do ligamento periodontal apical:

- 0 - normal ou suavemente aumentado
- 1 - moderadamente aumentado
- 2 - severamente aumentado

c) Reabsorção dos tecidos mineralizados – cimento:

- 0 - ausente
- 1 - presente

d) Reabsorção dos tecidos mineralizados – osso alveolar:

- 0 - ausente
- 1 - presente

Os dados obtidos foram anotados em fichas cujo modelo está representado a seguir.

Quadro 2 – Modelo de ficha utilizada para anotação dos resultados histopatológicos.

AVALIAÇÃO		RAIZ	RAIZ	RAIZ
INFILTRADO INFLAMATÓRIO (intensidade)	Ausente/suave			
	Moderado			
	Severo			
ESPESSURA DO LIGAMENTO PERIODONTAL	Normal/suavemente aumentado			
	Moderadamente aumentado			
	Severamente aumentada			
REABSORÇÃO DOS TECIDOS MINERALIZADOS	Cimento			
	Osso alveolar			

Planejamento Estatístico dos Resultados da Avaliação Histopatológica

Os escores estabelecidos para os fenômenos histopatológicos analisados foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, e a comparação entre grupos foi realizada pelo teste de Dunn buscando diferenciar cada fenômeno individualmente e posteriormente agrupá-los para a análise global. Assim, para diferenciação dos vários grupos, foi considerada diferença estatisticamente significativa, quando o nível de significância fosse superior a 5%.

Resultado

▪ Avaliação histopatológica em dentes de cães

No Quadro 3 encontram-se dispostas as frequências dos espécimes para cada fenômeno histopatológico avaliado, distribuídas em função de suas ocorrências nos diversos grupos experimentais.

Quadro 3 - Frequência dos espécimes de acordo com os fenômenos histopatológicos avaliados, distribuídos em função dos grupos experimentais

ASPESTOS HISTOPATOLÓGICOS		NaOCl 1%	NaOCl 2,5%	NaOCl 5%	Clorex 2%	Soro	LPS	Ca (OH) ₂
Infiltrado Inflamatório	Ausente/Suave	2	3	7	5	0	2	16
	Moderado	6	5	6	10	4	5	2
	Severo	12	11	6	5	15	13	2
Espessura do Ligamento Periodontal	Normal/Suavemente ampliado	2	3	0	3	0	2	16
	Moderadamente ampliado	7	7	13	10	5	6	2
	Severamente Ampliado	11	9	6	7	14	12	2
Reabsorção Dos tecidos Mineralizados	Cimento	18	15	14	13	15	14	3
	Osso alveolar	19	19	17	18	16	17	3

▪ **Análise descritiva do Grupo I - Solução de HIPOCLORITO DE SÓDIO A 1%**

Neste grupo, onde no preparo biomecânico dos canais radiculares foi utilizada a solução de hipoclorito de sódio a 1% nas 20 raízes avaliadas, foram observadas alterações inflamatórias e reabsorção de tecidos mineralizados na região apical e periapical (Figura 1).

Na região periapical, o infiltrado inflamatório era misto composto por células mononucleares entremeadas por neutrófilos de grau severo em 12, moderado em 6 e suave em 2 raízes.

No ligamento periodontal havia células inflamatórias difusamente espalhadas por toda a região periapical sendo observado em vários espécimes um ou mais focos inflamatórios localizados próximo à abertura apical. A espessura do ligamento periodontal periapical mostrava-se suavemente ampliada em 2 casos, moderada e severamente aumentada em 7 e 11 espécimes respectivamente.

Reabsorções cementárias foram observadas em 18 das 20 raízes e reabsorções ósseas em 19 casos.

Junto ao osso alveolar havia grande quantidade de osteoclastos evidenciando a elevada atividade de reabsorção óssea existente.

▪ **Análise descritiva do Grupo II - Solução de HIPOCLORITO DE SÓDIO A 2,5%**

Neste grupo as alterações apicais e periapicais evidenciaram nas 19 raízes, quadro histopatológico semelhante àquele encontrado no grupo I (solução de hipoclorito a 1%), ou seja, processo inflamatório moderado/severo, presença de reabsorções cementárias e ósseas ativas e áreas de necrose e congestão/proliferação vascular intensa (Figura 2).

O infiltrado inflamatório observado na região periapical era severo em 11, moderado em 5 e suave em 3 raízes.

A espessura do ligamento periodontal periapical estava suavemente ampliada em 3 casos, moderada e severamente aumentada em 7 e 9 espécimes respectivamente. Havia células inflamatórias concentradas por toda a região periapical, edema generalizado e dissociação fibrilar.

Havia reabsorção de cimento em 15 espécimes e de osso alveolar em todos os 19 casos avaliados. Osteoclastos eram vistos em considerável quantidade, confirmando a reabsorção óssea presente.

▪ **Análise descritiva do Grupo III - HIPOCLORITO DE SÓDIO A 5%**

Nas 19 raízes do grupo III, onde no preparo biomecânico dos canais radiculares foi utilizada a solução de hipoclorito de sódio a 5%, o tecido intersticial na região apical apresentava tecido conjuntivo necrótico, edema, células inflamatórias predominantemente mononucleadas, difusas entre acentuada hemorragia (Figura 3).

A intensidade da reação inflamatória na região periapical foi considerada suave em 7 casos, moderada em 6 e intensa em 6 espécimes.

No ligamento periodontal junto ao ápice radicular era evidenciado em infiltrado inflamatório difuso, predominantemente composto de células mononucleadas em meio a áreas de edema e dissociação fibrilar. Pode-se observar intensa proliferação e congestão vascular e áreas hemorrágicas espalhadas. À distância do forame havia células inflamatórias mononucleadas circundadas pela presença de fibras e escassa quantidade de matriz colágena. A espessura do ligamento estava severamente ampliada em 6 e moderadamente ampliada em 13 das raízes avaliadas.

A superfície do cimento apical apresentava áreas de reabsorção em 14, das 19 raízes avaliadas e, ausência de cementoblastos em sua superfície.

O osso alveolar em 17 das 19 raízes, mostrava áreas de reabsorção ativa, ausência de osteoblastos e presença de osteoclastos em quantidade considerável.

▪ **Análise descritiva do Grupo IV – Solução de digluconato de CLOREXIDINA A 2%**

Nos 20 canais radiculares irrigados com a solução de digluconato de clorexidina a 2% durante o preparo biomecânico, no cemento apical, pode-se observar lacunas cementárias ampliadas e, em sua maioria vazias ou preenchidas por células inflamatórias. O tecido intersticial mostrava áreas de necrose e intensa quantidade de células inflamatórias mononucleadas em meio à necrose tecidual e dissociação fibrilar (Figura 4).

Próximo à abertura apical era visto infiltrado inflamatório moderado e misto em 10 das 20 raízes sendo o mesmo, intenso e suave em 5 e 5 espécimes respectivamente. Havia intensa proliferação e congestão vascular e edema generalizado. A espessura do ligamento periodontal estava severamente ampliada em 7, moderadamente ampliada em 10 e suavemente ampliada em 3 raízes.

À distância do forame apical, o infiltrado inflamatório também misto, mostrava predominância de macrófagos e presença discreta de fibras colágenas na tentativa de circunscrever o processo inflamatório.

Em 13 casos, a superfície do cemento era irregular devido à reabsorção presente.

O osso alveolar apresentava com freqüência osteoclastos em sua superfície, sendo evidenciada reabsorção ativa em 18 dos 20 espécimes.

▪ **Análise descritiva do Grupo V - SORO FISIOLÓGICO**

Nas 19 raízes avaliadas neste grupo, as alterações observadas na região apical e periapical foram também severas em todas as variáveis analisadas (Figura 5).

No ligamento periodontal, o infiltrado inflamatório era misto, intenso e concentrado em 14 raízes, sendo de grau moderado em 5 espécimes. Junto à abertura foraminal, esse infiltrado era mais concentrado e entremeado com considerável presença de neutrófilos.

À distância do forame apical no infiltrado inflamatório, pode-se observar presença marcante de macrófagos e de intensa proliferação e congestão vascular. O edema era espalhado por toda a região havendo escassa presença de fibras colágenas na tentativa de circunscrever o processo inflamatório presente.

Na superfície do cimento havia reabsorção ativa em 15 das 19 raízes avaliadas, ausência de fibras e de cementoblastos.

No osso alveolar, em 16 espécimes havia a presença acentuada de osteoclastos os quais determinavam a reabsorção do mesmo.

Análise descritiva do Grupo VI - solução de LPS mantida no canal radicular

No Grupo VI, onde a solução de LPS bacteriano foi mantida nos canais radiculares, sem a realização do preparo biomecânico, foram evidenciadas alterações apicais e periapicais graves (Figura 6).

O ligamento periodontal mostrava células inflamatórias concentradas junto ao forame apical e, espalhadas à distância do mesmo. Próximo ao osso alveolar havia a presença de fibras colágenas dispostas paralelamente à superfície apical na tentativa de circunscrever o processo inflamatório presente.

O infiltrado inflamatório presente foi classificado como suave em 2, moderado em 5 e severo em 13 espécimes.

As lacunas cementárias encontravam-se ampliadas e vazias ou contendo áreas de necrose tecidual, hemorragia e células inflamatórias. No interior da abertura apical do canal radicular, o tecido intersticial invaginado do periodonto mostrava dissociação fibrilar, hemorragia acentuada e infiltrado inflamatório severo e misto, quadro este também observado próximo à abertura foraminal.

A superfície do cimento próximo à abertura apical apresentava reabsorção cementária em 14 espécimes. No osso alveolar havia áreas de reabsorção ativa com presença de osteoclastos em sua superfície (17 casos).

▪ **Análise descritiva do Grupo VII - emprego da pasta de hidróxido de cálcio (Calen)**

No Grupo VII, onde no preparo biomecânico foi utilizado o soro fisiológico e a pasta de hidróxido de cálcio Calen como curativo de demora, as alterações apicais e periapicais foram consideradas suaves (Figuras 7 e 8).

O ligamento periodontal apical mostrava reação inflamatória de pequena intensidade junto ao forame apical, sendo ausente à distância do ápice. O infiltrado inflamatório presente foi classificado como suave em 16, moderado em 2 e severo em 2 raízes.

Junto a abertura apical do canal radicular, o tecido intersticial invaginado do periodonto mostrava formação fibrilar e infiltrado inflamatório suave.

O ligamento periodontal apical apresentava espessura normal em 16 raízes, moderada e severamente espessado em 2 e 2 casos, respectivamente. A superfície do cimento próximo à abertura apical apresentava reabsorção cementária em 3 espécimes.

No osso alveolar não eram observadas áreas de reabsorção ativa, na qual pode ser observada a presença de osteoblastos em sua superfície. Apenas 3 casos apresentavam reabsorção na superfície do osso alveolar.

▪ **Resultados Estatísticos da Avaliação Histopatológica**

As frequências apresentadas no Quadro 3 foram dispostas de modo a receberem escores em forma crescente de adversidade à reparação, propiciando a aplicação do teste estatístico não paramétrico de Kruskal-Wallis. Este teste comparou os sete grupos experimentais entre si, para posteriormente, quando observada diferença significativa em nível de 5 por cento, fosse realizada a comparação entre os grupos, dois a dois, pelo teste de comparações múltiplas de Dunn, buscando as diferenciações entre eles. Cada aspecto histológico avaliado: infiltrado inflamatório periapical, espessura do espaço periodontal, reabsorção dos tecidos mineralizados cimento e osso alveolar, tiveram seus dados submetidos a este teste estatístico. Assim, foram compostas as tabelas de número 1 a 10, as quais apresentam a soma de postos e postos médios dos grupos experimentais. Nos seus rodapés encontram-se os dados dos resultados do teste de Kruskal-Wallis. Quando ocorreu diferença significativa entre os grupos, a tabela complementar apresenta os dados das comparações entre os postos médios dos diferentes grupos, dois a dois, de acordo com o teste de comparações múltiplas de Dunn.

Tabela 1 – Soma dos postos, posto médio e resultados estatísticos das comparações entre os grupos experimentais, quanto ao infiltrado inflamatório periapical.

GRUPOS EXPERIMENTAIS	SOMA DE POSTOS	POSTO MÉDIO
I – NaOCl 1%	1629	81,45
II – NaOCl 2,5%	1487	78,26
III – NaOCl 5%	1086	57,16
IV - Clorexidina 2%	1162,5	58,12
V - Soro fisiológico	1800,5	94,76
VI – LPS	1680	84
VII –Ca(OH) ₂ – Calen	608	30,4

Kruskal-Wallis KW = 41,82 (significante)

GRUPOS EXPERIMENTAIS ESTATISTICAMENTE DIFERENTES
--

Tabela 2 – Comparação, dois a dois, entre postos médios dos grupos experimentais, quanto ao infiltrado inflamatório periapical de acordo com o teste de comparações múltiplas de Dunn.

COMPARAÇÃO ENTRE GRUPOS	DIFERENÇA ENTRE POSTOS MÉDIOS	SIGNIFICÂNCIA
		n.s. = 5%
NaOCl 1% X NaOCl 2,5%	3,19	n.s. p>0,05
NaOCl 1% X NaOCl 5%	24,29	n.s. p>0,05
NaOCl 1% X Clorex.2%	23,33	n.s. p>0,05
NaOCl 1% X Soro fisiol.	-13,31	n.s. p>0,05
NaOCl 1% X LPS	-2,55	n.s. p>0,05
NaOCl 1% X Calen	51,05	*** p<0,001
NaOCl 2,5% X NaOCl 5%	21,11	n.s. p>0,05
NaOCl 2,5% X Clorex.2%	20,14	n.s. p>0,05
NaOCl 2,5% X Soro fisiol.	-16,5	n.s. p>0,05
NaOCl 2,5% X LPS	-5,74	n.s. p>0,05
NaOCl 2,5% X Calen	47,86	** p<0,01
NaOCl 5% X Clorex.2%	-0,97	n.s. p>0,05
NaOCl 5% X Soro fisiol.	-37,61	n.s. p>0,05
NaOCl 5% X LPS	-26,84	n.s. p>0,05
NaOCl 5% X Calen	26,76	n.s. p>0,05
Clorex. 2% X Soro fisiol.	-36,64	n.s. p>0,05
Clorex. 2% X LPS	-25,88	n.s. p>0,05
Clorex. 2% X Calen	27,73	n.s. p>0,05
Soro fisiol. X LPS	10,76	n.s. p>0,05
Soro fisiol. X Calen	64,36	*** p<0,001
LPS X Calen	53,60	*** p<0,001

DIFERENÇAS ESTATISTICAMENTE SIGNIFICANTE ENTRE GRUPOS EXPERIMENTAIS I, II, V, VI E O GRUPO VII - CALEN
--

Tabela 3 – Soma dos postos, posto médio e resultados estatísticos das comparações entre os grupos experimentais, quanto à espessura do ligamento periodontal apical.

GRUPOS EXPERIMENTAIS	SOMA DE POSTOS	POSTO MÉDIO
I – NaOCl 1%	1564,5	78,23
II – NaOCl 2,5%	1364	71,79
III – NaOCl 5%	1311,5	69,03
IV - Clorexidina 2%	1304,5	65,23
V - Soro fisiológico	1755,5	92,4
VI – LPS	1620	81
VII –Ca(OH)2 – Calen	533	26,65

Kruskal-Wallis KW = 38,01 (significante)

GRUPOS EXPERIMENTAIS ESTATISTICAMENTE DIFERENTES
--

Tabela 4 – Comparação, dois a dois, entre postos médios dos grupos experimentais, quanto à espessura do ligamento periodontal apical de acordo com o teste de comparações múltiplas de Dunn.

COMPARAÇÃO ENTRE GRUPOS	DIFERENÇA ENTRE POSTOS MÉDIOS	SIGNIFICÂNCIA
		n.s. = 5%
NaOCl 1% X NaOCl 2,5%	6,44	n.s. p>0,05
NaOCl 1% X NaOCl 5%	9,2	n.s. p>0,05
NaOCl 1% X Clorex.2%	13	n.s. p>0,05
NaOCl 1% X Soro fisiol.	-14,17	n.s. p>0,05
NaOCl 1% X LPS	-2,77	n.s. p>0,05
NaOCl 1% X Calen	51,57	*** p<0,001
NaOCl 2,5% X NaOCl 5%	2,76	n.s. p>0,05
NaOCl 2,5% X Clorex.2%	6,56	n.s. p>0,05
NaOCl 2,5% X Soro fisiol.	-20,6	n.s. p>0,05
NaOCl 2,5% X LPS	-9,21	n.s. p>0,05
NaOCl 2,5% X Calen	45,14	** p<0,01
NaOCl 5% X Clorex.2%	3,8	n.s. p>0,05
NaOCl 5% X Soro fisiol.	-11,97	n.s. p>0,05
NaOCl 5% X LPS	42,38	n.s. p>0,05
NaOCl 5% X Calen	-27,17	** p<0,01
Clorex. 2% X Soro fisiol.	-15,77	n.s. p>0,05
Clorex. 2% X LPS	38,57	n.s. p>0,05
Clorex. 2% X Calen	11,39	* p<0,05
Soro fisiol. X LPS	65,74	n.s. p>0,05
Soro fisiol. X Calen	54,35	*** p<0,001
LPS X Calen	53,60	*** p<0,001

DIFERENÇAS ESTATISTICAMENTE SIGNIFICANTE ENTRE GRUPOS EXPERIMENTAIS I A VI E O GRUPO VII – CALEN
--

Tabela 5 – Soma dos postos, posto médio e resultados estatísticos das comparações entre os grupos experimentais, quanto às reabsorções cementárias.

GRUPOS EXPERIMENTAIS	SOMA DE POSTOS	POSTO MÉDIO
I – NaOCI 1%	1693	84,65
II – NaOCI 2,5%	1464,5	77,08
III – NaOCI 5%	1396	73,47
IV - Clorexidina 2%	1350,5	67,52
V - Soro fisiológico	1464,5	77,08
VI – LPS	1419	70,95
VII –Ca(OH) ₂ – Calen	665,5	33,27

Kruskal-Wallis KW = 32,03 (significante)

GRUPOS EXPERIMENTAIS ESTATISTICAMENTE DIFERENTES
--

Tabela 6 – Comparação, dois a dois, entre postos médios dos grupos experimentais, quanto às reabsorções cementárias de acordo com o teste de comparações múltiplas de Dunn.

COMPARAÇÃO ENTRE GRUPOS	DIFERENÇA ENTRE POSTOS MÉDIOS	SIGNIFICÂNCIA n.s. = 5%
NaOCI 1% X NaOCI 2,5%	7,57	n.s. p>0,05
NaOCI 1% X NaOCI 5%	11,18	n.s. p>0,05
NaOCI 1% X Clorex.2%	17,12	n.s. p>0,05
NaOCI 1% X Soro fisiol.	7,57	n.s. p>0,05
NaOCI 1% X LPS	13,7	n.s. p>0,05
NaOCI 1% X Calen	51,37	*** p<0,001
NaOCI 2,5% X NaOCI 5%	3,6	n.s. p>0,05
NaOCI 2,5% X Clorex.2%	9,55	n.s. p>0,05
NaOCI 2,5% X Soro fisiol.	0	n.s. p>0,05
NaOCI 2,5% X LPS	6,13	n.s. p>0,05
NaOCI 2,5% X Calen	43,8	*** p<0,001
NaOCI 5% X Clorex.2%	5,95	n.s. p>0,05
NaOCI 5% X Soro fisiol.	-3,6	n.s. p>0,05
NaOCI 5% X LPS	2,52	n.s. p>0,05
NaOCI 5% X Calen	40,2	** p<0,01
Clorex. 2% X Soro fisiol.	-9,55	n.s. p>0,05
Clorex. 2% X LPS	-3,42	n.s. p>0,05
Clorex. 2% X Calen	34,25	* p<0,05
Soro fisiol. X LPS	6,13	n.s. p>0,05
Soro fisiol. X Calen	43,8	*** p<0,001
LPS X Calen	37,67	** p<0,01

DIFERENÇAS ESTATISTICAMENTE SIGNIFICANTE ENTRE GRUPOS EXPERIMENTAIS I A VI E O GRUPO VII – CALEN
--

Tabela 7 – Soma dos postos, posto médio e resultados estatísticos das comparações entre os grupos experimentais, quanto à reabsorção óssea.

GRUPOS EXPERIMENTAIS	SOMA DE POSTOS	POSTO MÉDIO
I – NaOCl 1%	1591,5	79,57
II – NaOCl 2,5%	1577	83
III – NaOCl 5%	1440	75,79
IV - Clorexidina 2%	1523	76,15
V - Soro fisiológico	1371,5	72,18
VI – LPS	1454,5	72,72
VII –Ca(OH)2 – Calen	495,5	24,77

Kruskal-Wallis KW = 61,73 (significante)

GRUPOS EXPERIMENTAIS ESTATISTICAMENTE DIFERENTES
--

Tabela 8 – Comparação, dois a dois, entre postos médios dos grupos experimentais, quanto à reabsorção óssea, de acordo com o teste de comparações múltiplas de Dunn.

COMPARAÇÃO ENTRE GRUPOS	DIFERENÇA ENTRE POSTOS MÉDIOS	SIGNIFICÂNCIA n.s. = 5%
NaOCl 1% X NaOCl 2,5%	-3,42	n.s. p>0,05
NaOCl 1% X NaOCl 5%	3,79	n.s. p>0,05
NaOCl 1% X Clorex.2%	3,42	n.s. p>0,05
NaOCl 1% X Soro fisiol.	7,4	n.s. p>0,05
NaOCl 1% X LPS	6,85	n.s. p>0,05
NaOCl 1% X Calen	54,8	*** p<0,001
NaOCl 2,5% X NaOCl 5%	7,21	n.s. p>0,05
NaOCl 2,5% X Clorex.2%	6,85	n.s. p>0,05
NaOCl 2,5% X Soro fisiol.	10,82	n.s. p>0,05
NaOCl 2,5% X LPS	10,27	n.s. p>0,05
NaOCl 2,5% X Calen	58,22	*** p<0,001
NaOCl 5% X Clorex.2%	-0,36	n.s. p>0,05
NaOCl 5% X Soro fisiol.	3,6	n.s. p>0,05
NaOCl 5% X LPS	3,06	n.s. p>0,05
NaOCl 5% X Calen	51,01	*** p<0,001
Clorex. 2% X Soro fisiol.	3,97	n.s. p>0,05
Clorex. 2% X LPS	3,42	n.s. p>0,05
Clorex. 2% X Calen	51,37	*** p<0,001
Soro fisiol. X LPS	-0,54	n.s. p>0,05
Soro fisiol. X Calen	47,41	*** p<0,001
LPS X Calen	37,95	*** p<0,001

DIFERENÇAS ESTATISTICAMENTE SIGNIFICANTE ENTRE GRUPOS EXPERIMENTAIS I A VI E O GRUPO VII – CALEN
--

Tabela 9 – Soma dos postos, posto médio e resultados estatísticos das comparações entre os grupos experimentais, considerando-se os aspectos avaliados de maneira global – infiltrado inflamatório periapical, espessura do ligamento periodontal apical e rebsorções cementária e óssea.

GRUPOS EXPERIMENTAIS	SOMA DE POSTOS	POSTO MÉDIO
I – NaOCl 1%	25601	320,01
II – NaOCl 2,5%	23229	305,64
III – NaOCl 5%	20727	272,72
IV - Clorexidina 2%	21209	265,11
V - Soro fisiológico	25727	338,51
VI – LPS	24746	309,32
VII –Ca(OH)2 – Calen	9189	114,86

Kruskal-Wallis KW = 129,9 (significante)

GRUPOS EXPERIMENTAIS ESTATISTICAMENTE DIFERENTES
--

Tabela 10 – Comparação, dois a dois, entre postos médios dos grupos experimentais, quanto à avaliação global, de acordo com o teste de comparações múltiplas de Dunn.

COMPARAÇÃO ENTRE GRUPOS	DIFERENÇA ENTRE POSTOS MÉDIOS	SIGNIFICÂNCIA n.s. = 5%
NaOCl 1% X NaOCl 2,5%	14,36	n.s. p>0,05
NaOCl 1% X NaOCl 5%	47,28	n.s. p>0,05
NaOCl 1% X Clorex.2%	54,9	n.s. p>0,05
NaOCl 1% X Soro fisiol.	-18,5	n.s. p>0,05
NaOCl 1% X LPS	10,69	n.s. p>0,05
NaOCl 1% X Calen	205,1	*** p<0,001
NaOCl 2,5% X NaOCl 5%	32,92	n.s. p>0,05
NaOCl 2,5% X Clorex.2%	40,54	n.s. p>0,05
NaOCl 2,5% X Soro fisiol.	-32,86	n.s. p>0,05
NaOCl 2,5% X LPS	-3,67	n.s. p>0,05
NaOCl 2,5% X Calen	190,8	*** p<0,001
NaOCl 5% X Clorex.2%	7,62	n.s. p>0,05
NaOCl 5% X Soro fisiol.	-65,78	n.s. p>0,05
NaOCl 5% X LPS	-36,6	n.s. p>0,05
NaOCl 5% X Calen	157,9	*** p<0,001
Clorex. 2% X Soro fisiol.	-73,4	n.s. p>0,05
Clorex. 2% X LPS	-44,21	n.s. p>0,05
Clorex. 2% X Calen	150,2	*** p<0,001
Soro fisiol. X LPS	29,19	n.s. p>0,05
Soro fisiol. X Calen	223,6	*** p<0,001
LPS X Calen	194,5	*** p<0,001

DIFERENÇAS ESTATISTICAMENTE SIGNIFICANTE ENTRE GRUPOS EXPERIMENTAIS I A VI E O GRUPO VII – CALEN
--

Considerando-se os resultados da análise estatística realizada, observamos que, o grupo em que foi empregado curativo de demora à base de hidróxido de cálcio (VII - Calen) apresentou resultados superiores em todos os aspectos histopatológicos analisados ($p < 0,05$). Os grupos em que não foi utilizado curativo de demora, sendo o preparo biomecânico coadjuvado por diferentes soluções irrigadoras (I a V) ou o grupo controle (VI), no qual o LPS foi mantido no canal radicular por todo período experimental, apresentaram resultados inferiores, sendo semelhantes entre si ($p > 0,05$) em todos os aspectos avaliados.

Apesar da semelhança entre os grupos que não receberam o curativo de demora, quando o preparo biomecânico foi coadjuvado pelas soluções de hipoclorito de sódio a 5% ou clorexidina a 2%, não foi observada diferença significativa quando analisada a intensidade do infiltrado inflamatório periapical ($p > 0,05$) em comparação ao grupo com curativo de demora. Nos demais parâmetros avaliados, incluindo a avaliação global, as diferenças entre os grupos que não receberam e o que empregou curativo de demora foram significantes ($p < 0,05$).

A análise global dos aspectos histológicos estudados, de acordo com as Tabelas 9 e 10, demonstra diferença significativa entre os grupos experimentais, destacando o grupo no qual foi empregado o curativo de demora à base de hidróxido de cálcio, com melhores resultados de reparo dos tecidos apicais e periapicais ($p < 0,05$), sendo os demais grupos inferiores e semelhantes entre si ($p > 0,05$).

D

Discussão

▪ Da Metodologia

Vários métodos têm sido descritos para a avaliação da biocompatibilidade de materiais empregados na Odontologia, desde trabalhos *in vitro* como cultura de células, como os *in vivo*, os quais procuram reproduzir as condições clínicas de tratamento. Assim, a resposta dos tecidos apicais e periapicais ao tratamento endodôntico, só poderia ser avaliada em sua plenitude por meio de exame histopatológico, a partir de material colhido em cirurgia periapical (Paterson & Watts, 1990).¹⁰⁸ A necessidade de biópsia do dente em conjunto com os tecidos periapicais de suporte, descartada hoje em humanos por aspectos éticos, torna essencial a utilização de um modelo animal que permita o exame microscópico das respostas celulares (Browne, 1994).²³

A seleção de um modelo de experimentação animal depende de uma série de fatores como: facilidade de obtenção e manutenção do animal, padrão mastigatório, resistência à infecção, tamanho, número e morfologia dental compatíveis com o humano. A resposta tecidual e o padrão de crescimento devem ser semelhantes ao do homem, porém, rápidos o suficiente para que se obtenha resposta em menor período de tempo (Rowe, 1965, 1980;^{120,119} Torneck & Smith, 1970;¹⁵³ Pitt Ford, 1984;¹¹¹ Callis, 1987;²⁹ Tanomaru Filho,2001).¹⁵⁰

Os cães, utilizados neste estudo como modelo experimental são animais de fácil obtenção e de manutenção viável economicamente. São fáceis de serem anestesiados e, com resistência a prolongados períodos de sedação. Além disso, o cão apresenta dentes com estruturas mineralizadas, dentina e cemento, semelhantes as do homem, assim como o processo de reparo (Citrome, 1979).³⁰ Rowe, (1980)¹¹⁹ relata que o cão possui crescimento rápido, o que permite a obtenção de resultados em menores períodos de tempo.

O cão, como modelo experimental, tem sido empregado em uma grande quantidade de estudos, como os realizados por Holland et al., 1978, 1983, 1992;^{57,55,58} Pitt Ford, 1982, 1984;^{110,111} Allard et al., 1987;³ Silva, 1988, 1991;^{129,130} Bonetti Filho, 1990, 2000;^{21,22} Leonardo et al., 1994, 1995, 1996, 1997;^{77,78,79,82} Tanomaru Filho, 1996, 2001;^{149,150} Berbert, 1999;¹⁷ Katebzadeh et al., 1999;⁶⁷ Shabanhang et al., 1999;¹²⁸ Soares, 1999;¹³⁷ Nelson Filho, 2000;¹⁰¹ Mattos, 2001⁹¹, dentre outros.

A correlação entre a idade dos cães para com os humanos pode ser efetuada utilizando a tabela de conversão de idade sugerida por Lebeau⁷² em 1953, na qual um cão aos 2 anos é equivalente a um homem de 24 anos e, cada ano após esses dois, será equivalente a quatro anos nos humanos. Assim optamos por animais jovens, com idade entre 1 ano e 1 ano e meio, que equivaleria no homem à idade entre 15 e 20 anos, visto que a velocidade de formação e o tamanho da lesão periapical estão relacionadas também com o volume da cavidade pulpar.

Os dentes dos cães utilizados neste experimento foram os segundos, terceiros e quartos pré-molares inferiores e os segundos e terceiros pré-molares superiores, selecionados por apresentarem semelhança anatômica, igual número de raízes e canais amplos e retos, permitindo maior padronização dos procedimentos técnicos durante o tratamento endodôntico e processamento histopatológico (Silva, 1988, 1991;^{129,130} Leonardo et al., 1994, 1995;^{77,78} Soares, 1999;¹³⁷ Tanomaru Filho, 2001).¹⁵⁰

Optou-se pela manutenção da cúspide oclusal, com o objetivo de diminuir a ocorrência de fraturas coronárias, sendo esta considerada área de reforço (Barker & Lockett, 1971;¹² Berbert, 1978;¹⁶ Silva, 1988, 1991;^{129,130} Leonardo et al., 1994).⁷⁷

Concordamos com Katebzadeh et al. (1999),⁶⁷ quando afirmam ser difícil efetuar-se uma correlação direta entre os resultados obtidos com animais experimentais e aqueles que seriam obtidos no homem. Assim, para atenuar a influência da resistência individual do animal na resposta tecidual observada, em cada animal foram realizados 4 grupos experimentais, obedecendo um sistema de rodízio para distribuição dos mesmos, possibilitando a discriminação quanto ao comportamento de cada tratamento comparativamente. No homem, certamente, essa diferença entre os tratamentos também ocorreria (Nelson Filho, 2000).¹⁰¹

Wolff (1973)¹⁶³ considera os humanos como os seres mais sensíveis aos efeitos biológicos da endotoxina. Dessa forma, podemos inferir que o presente trabalho, efetuado em cães, se reproduzido em humanos, provavelmente ocasionaria reações mais acentuadas.

Devido à presença de um delta apical com inúmeras ramificações nos dentes do cão (Pitts et al., 1982)¹¹², e considerando ser objetivo deste trabalho a avaliação do efeito da endotoxina sobre os tecidos apicais e periapicais, julgamos imprescindível realizar o arrombamento do ápice radicular permitindo, dessa forma, maior atuação da endotoxina nos tecidos peripaicais, em período de tempo mais curto, devido à eliminação da barreira tecidual existente no canal cementário.

A necessidade do arrombamento apical foi avaliada por Pitts et al.,¹¹² em 1982, que injetaram LPS de *Salmonella minnesota* em canais radiculares de dentes de cães, após pulpectomia, seguida ou não de arrombamento apical, com brocas de Gates-Glidden de números 1 a 3, associadas a limas tipo K. De acordo com os resultados obtidos, as raízes não arrombadas, preenchidas com LPS, evidenciaram alterações radiográficas e histopatológicas leves ou ausentes, após 4 ou 5 semanas, de forma semelhante ao grupo controle, onde os canais radiculares foram preenchidos com solução salina. Assim, concluíram que, possivelmente, uma quantidade mínima de endotoxina tenha alcançado o ápice e periápice radicular, nos dentes não arrombados. Mattison et al.,⁹⁰ em

1987, também avaliaram o efeito de LPS de *E. corrodens* sobre os tecidos apicais e periapicais de dentes de cães, após pulpectomia, arrombando o forame apical com limas tipo K n°20. Concordamos com esses autores, quando salientam a necessidade da realização do arrombamento apical, em dentes de cães, quando da realização de experimentos dessa natureza, para obtenção de resultados mais rápidos e confiáveis.

Nelson Filho,¹⁰¹ em 2000 avaliando a inativação do LPS de *E. coli* pelo hidróxido de cálcio, considerou o arrombamento apical de fundamental importância para permitir contato direto da solução de LPS com os tecidos apicais e periapicais. O arrombamento apical foi realizado conforme Bonetti Filho (1990),²¹ Silva (1995);¹³¹ Tanomaru Filho (1996, 2001);^{149,150} Nelson Filho (2000);¹⁰¹ utilizando-se limas tipo K de n°15, 20, 25 e 30 no Comprimento Real do Dente, previamente estabelecido na odontometria. Porém existem outras formas de arrombamento em relação ao diâmetro da lima utilizada, ou seja, ao diâmetro da patência atribuída ao forame apical, podendo ser equivalente a uma lima tipo K n°20 (Mattison et al., 1987;⁹⁰ Holland et al., 1990;⁵⁶ Otoboni Filho, 2000),¹⁰⁷ n°25 (Soares et al., 1999),¹³⁷ n°30 (Bonetti Filho, 1990)²¹ ou n°40 (Holland & Souza, 1985).⁵³ No presente trabalho optou-se pelo arrombamento até a lima tipo K n°30, com o objetivo de criar um forame único e padronizado e permitindo maior contato da solução de LPS com os tecidos periapicais.

Após o arrombamento apical, recuou-se 2mm do ápice e foi realizada uma pré dilatação do canal radicular até a lima nº40, pela técnica clássica (Leonardo, 1998),⁷⁴ sendo a irrigação realizada com soro fisiológico, seguido da remoção da camada residual com solução de EDTA mantida por 3 minutos e neutralização com soro fisiológico. O emprego do Instrumento Apical Foraminal nesta fase, ou seja, a lima tipo K número 30, teve a finalidade de remoção de possíveis raspas de dentina da região foraminal. A manutenção da solução de LPS por 10 dias teve como objetivo possibilitar a sua difusão pela dentina.

Nissan et al.,¹⁰³ em 1995 estudando a capacidade de difusão pela dentina da endotoxina bacteriana, demonstraram que a endotoxina é capaz de penetrar 0,5 mm na dentina, em 24 horas, sem uso de pressão. Segal et al.,¹²⁵ em 1990, estudando a penetração da endotoxina em discos de dentina, demonstraram difusão de $\pm 0,2$ mm, no período de 5 minutos. Michelich et al.,⁹² em 1980 demonstraram que utilizando-se de uma certa pressão, foi suficiente para a penetração da endotoxina em 1,0mm do disco de dentina após 20 minutos. O fator determinante no período de penetração na dentina pode estar relacionado ao alto peso molecular da endotoxina e também a sua ligação à estrutura mineral, neste caso a dentina. Estes dados justificam o período de 10 dias, no qual a endotoxina foi mantida no interior do canal radicular anteriormente ao preparo biomecânico, utilizando-se as soluções irrigadoras em teste. Assim, durante o preparo biomecânico não deveria

ocorrer a completa remoção da endotoxina, para que a ação das soluções irrigadoras pudesse ser avaliada.

Neste trabalho, a opção pela endotoxina derivada da *Escherichia coli*, baseou-se em trabalho anteriormente realizado por Nelson Filho,¹⁰¹ em 2000, além da ampla citação e indicação como grupo controle nos trabalhos de pesquisa (Hausmann et al., 1970;⁵⁰ Dahlén & Bergenholtz, 1980;³⁴ Mattison et al., 1987;⁹⁰ Horiba et al., 1989; 1991; 1992;^{62,60,61} Yamasaki et al., 1992;¹⁶⁶ Nakane et al., 1995;¹⁰⁰ Blix & Helgeland, 1998;²⁰ Opal et al., 1999;¹⁰⁶ Nelson Filho, 2000),¹⁰¹ fundamentada em sua comprovada toxicidade, assim como grupo experimental, para avaliação da atividade biológica do LPS, em diferentes níveis de pesquisa (Niwa et al., 1969;¹⁰⁴ Robinson & Shapiro, 1975;¹¹⁶ Dwyer & Torabinejad, 1981;³⁷ Pinero et al., 1983;¹⁰⁹ Hirafuji & Shinoda, 1994;⁵² Yoshinuma et al., 1994;¹⁶⁹ Nagaoka et al., 1996;⁹⁹ Barthel et al., 1997;¹³ Day et al., 1998;³⁶ Levin et al., 1998;⁸⁴ Aibel & Stevens, 1999;² Nelson Filho, 2000).¹⁰¹ Embora seja um microrganismo entérico, a estrutura molecular da *E. coli*, de acordo com Mattison et al. (1987),⁹⁰ é representativa da maioria das endotoxinas. Também, essa endotoxina é de mais fácil obtenção e de menor custo.

A concentração ideal de LPS de *Fusobacterium nucleatum* utilizada por Dahlén et al. (1981),³⁵ em dentes de macacos, foi de 10 mg/mL. Cada canal radicular foi preenchido com 5-10µL da solução, num total de 50-100µg de LPS por canal radicular. Dwyer & Torabinejad

(1981)³⁷ avaliaram, em gatos, o efeito de 3 concentrações de endotoxina de *E. coli* (1,10 e 100µg/ mL). Cada canal radicular foi preenchido com 0,1 mL da solução, contendo cerca de 0,1 a 10µg de endotoxina. No entanto, não observaram diferenças nas respostas ocasionadas pelas três diferentes concentrações utilizadas. Já em 1982, Pitts et al.¹¹² preencheram os canais radiculares de dentes de cães com 0,1mL de endotoxina de *Salmonella minnesota*, na concentração de 1mg/mL, enquanto que Mattison et al.(1987)⁹⁰ utilizaram esse mesmo volume de endotoxina de *E. corrodens* e *E.coli*, na concentração de 10µg/mL. Verificando que a literatura, além de restrita, tem utilizado concentrações de endotoxina bastante variadas, Nelson Filho (2000),¹⁰¹ realizou um estudo piloto, onde foram injetadas nos canais radiculares de dentes de cães três diferentes concentrações de LPS : 0,1, 1 e 10 mg/mL e a opção para utilização em seu estudo que avaliou a inativação *in vivo* da endotoxina de *E. coli* pelo hidróxido de cálcio foi de 10mg/mL, uma vez que esta evidenciou alterações radiográficas em períodos mais precoces. Baseado neste estudo prévio e na experiência do grupo de pesquisa com a endotoxina de *E. coli*, optou-se por utilizar esta mesma concentração, ou seja, de 10mg/mL.

Após o período de 10 dias, foi realizado o preparo biomecânico pela técnica clássica, de acordo com Leonardo (1998)⁷⁴ até a lima tipo K n°60 para os prés-molares superiores e n°70 para os inferiores, em função da diferença na anatomia dos canais radiculares,

sendo utilizado o volume de 3,6mL de solução irrigadora, de acordo com o grupo experimental, a cada troca de lima. Ao final, utilizou-se a solução de EDTA (Leonardo et al., 1993),⁸⁰ por 3 minutos para remoção da camada residual. Em seguida, o canal radicular foi preenchido novamente com a solução irrigadora em teste, permanecendo no seu interior por 60 dias.

Dentre as soluções irrigadoras em avaliação, outros trabalhos *in vitro* demonstraram a ineficácia das mesmas na inativação da endotoxina. A solução de hipoclorito de sódio, em diferentes concentrações, é a de uso mais difundido (Baumgartner & Cuenin, 1992;¹⁴ Walton & Rivera, 1996;¹⁵⁸ West & Roane, 2000),¹⁶¹ sendo recomendada na endodontia desde os anos 20.

As soluções empregadas neste estudo foram tituladas quanto as suas concentrações, previamente ao seu emprego, uma vez que a concentração de cloro ativo presente na solução é de fundamental importância, sendo sua ação bactericida proporcional à concentração da mesma (Bystrom & Sundqvist, 1983;²⁷ Foley et al., 1983;⁴⁰ Sundqvist et al., 1989;¹⁴⁴ Ayham et al., 1999).¹¹

Também foi utilizada a solução de digluconato de clorexidina a 2%, um bisguanídeo com ação antimicrobiana contra microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos, esporos, vírus lipofílicos, blastósporos e dermatófilos, apresentando ação bacteriostática em baixas concentrações e bactericida em altas

concentrações (Greenstein et al., 1986;⁴⁸ Jeansone & White, 1994;⁶⁵ Leonardo et al., 1999).⁸³

O soro fisiológico foi utilizado como controle, já que o mesmo não possui nenhuma atividade antimicrobiana e de inativação da endotoxina bacteriana (Nelson Filho, 2000),¹⁰¹ além de não exercer agressão aos tecidos periapicais. Em outro grupo controle, a endotoxina foi mantida por todo período experimental, com a finalidade de demonstrar a ação da endotoxina, permitindo a comparação quanto ao efeito do preparo biomecânico com as diferentes soluções irrigadoras.

No grupo em que foi utilizada a pasta à base de hidróxido de cálcio (Calen), o preparo foi realizado, utilizando-se como solução irrigadora o soro fisiológico, possibilitando a avaliação da ação do curativo de demora à base de hidróxido de cálcio, o qual tem sido indicado nos tratamentos de dentes com lesão periapical crônica visível radiograficamente, onde existe um predomínio das bactérias anaeróbias Gram-negativas, sendo a única substância biocompatível capaz de promover a hidrólise do Lípide A (Safavi & Nichols, 1993, 1994;^{121,122} Barthel et al.,1997;¹³ Nelson Filho, 2000).¹⁰¹ O grupo onde o preparo biomecânico foi realizado utilizando-se soro fisiológico permitiu a diferenciação da ação do preparo biomecânico e da pasta de hidróxido de cálcio.

No grupo em que a solução de LPS foi mantida, não foi realizado o preparo biomecânico, sendo o material restaurador definitivo

colocado logo após o preenchimento com solução de LPS. Nos outros grupos, o amálgama de prata, material restaurador definitivo foi utilizado após o preparo biomecânico com as diferentes soluções irrigadoras ou emprego do curativo de demora. O amálgama de prata tem sido amplamente utilizado pela disciplina de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Araraquara, devido as suas excelentes propriedades como: resistência à compressão, vedamento marginal, oclusão e alteração dimensional, além de fornecer resistência às cúspides (Tanomaru Filho, 2001),¹⁵⁰ evitando a fratura durante a pesquisa.

Após o período experimental, os animais foram mortos com sobredose anestésica para a remoção das peças e processamento das mesmas para análise histopatológica.

A metodologia adotada para a descalcificação das peças empregando a solução tamponada de cacodilato de sódio em forno de microondas, foi realizada de acordo com Soares (1999)¹³⁷ e Berbert (1999)¹⁷, tendo como propósito a preservação da morfologia tecidual e integridade celular durante o processo de descalcificação, o que favorece a análise dos fenômenos histopatológicos. Outro fator favorável, para o processamento histológico, foi a descalcificação mais rápida das peças, quando comparado ao método de Morse, que consiste no emprego de solução à base de ácido cítrico e citrato de sódio, cujo período necessário para descalcificação de peças de cães pode alcançar alguns meses.

▪ **Dos Resultados**

A) Preparo biomecânico com diferentes soluções irrigadoras

Os resultados histopatológicos demonstraram que o preparo biomecânico associado às diferentes soluções irrigadoras endodônticas avaliadas não foi eficiente na inativação dos efeitos tóxicos da endotoxina bacteriana. Assim, podemos observar que as alterações inflamatórias na região apical e periapical, bem como reabsorção dos tecidos mineralizados, cimento e osso alveolar foram intensas, em todos os grupos experimentais, onde somente o preparo biomecânico foi realizado, sendo os resultados semelhantes ao grupo controle ($p < 0,05$), no qual a solução de LPS foi mantida nos canais radiculares, sem a realização do preparo biomecânico ou quando o mesmo foi realizado utilizando-se o soro fisiológico como solução irrigadora.

A manutenção da solução de LPS pelo período de 60 dias mostrou-se capaz de promover intensa reação inflamatória dos tecidos apicais e periapicais, a qual apresentava-se severa em 13 casos e moderada em 5 espécimes dos 20 avaliados. O ligamento periodontal apical mostrava-se severa e moderadamente espessado em 9 e 7 casos respectivamente. A reabsorção dos tecidos mineralizados, cimento e osso alveolar também foi freqüentemente observada. Estes resultados são concordantes com os obtidos por Nelson Filho,¹⁰¹ 2000, após preenchimento dos canais radiculares de dentes de cães com solução de

endotoxina de *Escherichia coli* pelo período de 30 dias, de forma semelhante a realizada neste estudo.

Também, Mattison et al.,⁹⁰ em 1987, observaram após preenchimento dos canais radiculares de dentes de cães com endotoxina de *E. corrodens* por 4 semanas, reabsorção óssea periapical, reabsorção cementária, proliferação vascular, edema e infiltrado inflamatório com predomínio neutrofílico na região adjacente ao ápice e infiltrado inflamatório predominantemente do tipo crônico, com linfócitos e plasmócitos nas áreas periféricas.

Desta forma, o preparo biomecânico, empregando-se solução de hipoclorito de sódio em diferentes concentrações como solução irrigadora, mostrou-se incapaz de inativar os efeitos virulentos do LPS bacteriano. Em nosso estudo foram utilizados hipoclorito de sódio nas concentrações de 1%, 2,5% e 5%. A concentração de 5% apresenta maior ação bactericida sobre as bactérias anaeróbias Gram-negativas (Nikolaus et al., 1988;¹⁰² Georgopoulou et al., 1994;⁴³ Yelsilsoy et al., 1995),¹⁶⁷ porém em nenhuma das três concentrações foi encontrada inativação da endotoxina bacteriana de *Escherichia coli* e da *Salmonella typhosa in vitro* (Buttler & Crowford, 1982).²⁵

A solução de digluconato de clorexidina empregada como solução irrigadora durante o preparo biomecânico também foi ineficaz na inativação da endotoxina. Tais resultados concordam com resultados *in*

vitro obtidos por Aibel & Stevens, (1999)² após estudo desta solução na concentração de 1,2%, sem observar ação efetiva sobre a endotoxina.

Avaliando o efeito de soluções irrigadoras endodônticas e do hidróxido de cálcio sobre a endotoxina, por meio da quantificação de ácidos graxos livres, Buck et al.,²⁴ em 2001, não observaram eficiência para a água, EDTA, etanol, solução de clorexidina a 0,12%, solução de hipoclorito de sódio a 2,6% ou associação das soluções de hipoclorito de sódio e clorexidina. Porém, a exposição por 30 minutos a uma associação alcalina de clorexidina, etanol e solução de hipoclorito de sódio, bem como a pasta à base de hidróxido de cálcio por 1, 2 ou 5 dias apresentaram capacidade de hidrolisar o LPS. Esta associação de soluções irrigadoras não tem sido aplicada no tratamento endodôntico, bem como a condição de contato direto da mesma com a endotoxina presente no sistema de canais radiculares, pelo período de 30 minutos, durante o preparo biomecânico não corresponde à realidade clínica.

Neste estudo, após o preparo biomecânico, a solução irrigadora foi mantida nos canais radiculares durante o período experimental. Este procedimento não tem demonstrado ser fator importante para o desenvolvimento da lesão periapical, quando os canais radiculares não apresentam endotoxina. Assim, Nelson Filho,¹⁰¹ em 2000, em estudo semelhante não observou alterações inflamatórias periapicais significativas após manutenção dos canais radiculares de dentes de cães com soro fisiológico pelo período de 30 dias. Também, Dahlén et al.³⁵

avaliando a influência do LPS sobre os tecidos periapicais de dentes de macacos, usaram em grupo controle, canais radiculares mantidos vazios ou preenchidos com solução salina por 3 ou 7 meses, sendo as reações inflamatórias periapicais observadas predominantemente ausentes/leves.

A análise da intensidade do infiltrado inflamatório periapical demonstrou para as soluções de hipoclorito de sódio a 5% e de clorexidina a 2%, resultados semelhantes ao grupo em que o curativo de demora à base de hidróxido de cálcio foi empregado ($p>0,05$). Estes resultados podem estar relacionados a uma ação parcial destas soluções irrigadoras diminuindo a resposta inflamatória periapical. No entanto, os demais parâmetros avaliados como espessura do ligamento periodontal e reabsorção do cimento e osso alveolar, bem como, a análise global revelaram diferença significativa com relação ao grupo com curativo de demora à base de hidróxido de cálcio ($p<0,05$), o qual apresentou melhores resultados de reparo dos tecidos apicais e periapicais.

B) Emprego do curativo de demora à base de hidróxido de cálcio

Na Endodontia atual, a necessidade de emprego do curativo de demora em dentes com lesão periapical tem sido um tema amplamente estudado, sendo essa necessidade correlacionada com a microbiota específica do sistema de canais radiculares de dentes portadores de necrose pulpar e reação periapical crônica. Concordando

com esta afirmativa, Sundqvist (1976);¹⁴¹ e Sundqvist et al. (1989),¹⁴⁴ demonstraram que, em dentes sem vitalidade pulpar e com reação periapical crônica há grande concentração de microrganismos anaeróbios gram-negativos, os quais se distribuem pelo sistema de canais radiculares, atingindo a região apical e periapical (Tronstad et al., 1990).¹⁵⁵ Atualmente, a presença de grande concentração de microrganismos anaeróbios gram-negativos e conseqüentemente de endotoxinas (Schein & Schilder, 1975;¹²³ Schonfeld et al., 1982;¹²⁴ Sundqvist, 1992),¹⁴² são consideradas importantes justificativas para o emprego de um curativo de demora.

Assim, um dente com necrose pulpar e área radiolúcida na região periapical, visível radiograficamente, caracteriza uma infecção de longa duração, onde as bactérias estão localizadas e difundidas no sistema de canais radiculares, incluindo as ramificações, túbulos dentinários e cemento apical (Leonardo et al., 1994, 1999;^{77,76} Ribeiro & Consolaro, 2000;¹¹⁴ Silveira, 1997;¹³⁴ Soares, 1999).¹³⁷

Desta forma, somente o preparo biomecânico, mesmo associado à soluções irrigadoras comprovadamente bactericidas, não será capaz de promover desinfecção adequada do sistema de canais radiculares, e conseqüentemente proporcionar condições de reparo dos tecidos apicais e periapicais após o tratamento endodôntico de dentes com reação periapical crônica, sendo necessário o emprego do curativo de demora. Concordando com esta afirmação, Tanomaru Filho,¹⁵⁰ em

2001, demonstrou, após tratamento endodôntico em única sessão de dentes de cães com lesão periapical visível radiograficamente, estágio de reparo involutivo nos tecidos apicais e periapicais, sendo o preparo biomecânico coadjuvado pelas soluções de hipoclorito de sódio a 5,25% ou de digluconato de clorexidina a 2%. No entanto, quando o mesmo tratamento foi associado ao curativo de demora à base de hidróxido de cálcio, resultados satisfatórios de reparo dos tecidos apicais e periapicais foi observado.

Os resultados obtidos neste estudo ressaltam a importância dos subprodutos bacterianos, destacando as bactérias Gram-negativas, uma vez que as lesões periapicais foram induzidas pela endotoxina (LPS bacteriano) introduzida nos canais radiculares de dentes com vitalidade pulpar, após pulpectomia. Da mesma forma, o preparo biomecânico associado às várias soluções irrigadoras foi incapaz de inativar os efeitos tóxicos da endotoxina, já difundida pelo sistema de canais radiculares e aderida de forma irreversível aos tecidos mineralizados adjacentes, resultando na formação de extensas áreas de reabsorção óssea periapical e reação inflamatória severa. Assim, os resultados obtidos enfatizam a necessidade do emprego de um curativo de demora, o qual deve apresentar capacidade de inativação dos efeitos da endotoxina.

Os resultados obtidos com o grupo VII, que recebeu o curativo de demora à base de hidróxido de cálcio foram satisfatórios e

superiores aos observados para os demais grupos ($p < 0,05$). Neste grupo, observou-se a menor intensidade da resposta inflamatória dos tecidos apicais e periapicais, bem como a ausência ou suavidade dos fenômenos de reabsorção dos tecidos mineralizados, quando comparadas aos demais grupos ($p < 0,05$). Desta forma, o emprego de um curativo de demora à base de hidróxido de cálcio foi fundamental para proporcionar condição adequada de reparo dos tecidos periapicais, em função da sua ação sobre a endotoxina, inativando os seus efeitos virulentos.

Cabe ressaltar que neste estudo não foram introduzidas bactérias no canal radicular, mas somente o LPS bacteriano. Assim, além da propriedade bactericida, torna-se evidente que a capacidade de ação sobre a endotoxina passa a ser uma característica importante para as substâncias empregadas no tratamento endodôntico de dentes com lesão periapical. O emprego do hidróxido de cálcio como curativo de demora mostrou-se eficiente, destacando a necessidade de seu emprego no tratamento endodôntico de dentes com lesão periapical.

Alguns estudos realizados reforçam esta característica do hidróxido de cálcio. Safavi & Nichols,¹²¹ em 1993, observaram, *in vitro*, que o hidróxido de cálcio hidrolisa a molécula do Lípido A e, em 1994,¹²² concluíram que a hidrólise do Lípido A resulta na sua conversão em ácidos graxos e amino-açúcares, que são componentes atóxicos. Barthel et al.,¹³ em 1997, avaliaram a capacidade de neutralização da atividade biológica da endotoxina de *Escherichia coli* pelo hidróxido de cálcio, por

meio da dosagem da liberação de TNF-alfa em cultura de monócitos humanos, concluindo que o hidróxido de cálcio foi capaz de neutralizar o LPS bacteriano *in vitro*. Resultados semelhantes foram obtidos por Olsen et al.,¹⁰⁵ em 1999, utilizando como modelo experimental a liberação de IL-1Beta por monócitos. Também, Queiroz,¹¹³ em 2001, observou ação do hidróxido de cálcio sobre o LPS bacteriano por meio de análise da liberação de TNF- α em cultura de macrófagos.

Nelson Filho,¹⁰¹ em 2000, verificou resultados histopatológicos satisfatórios nos tecidos apicais e periapicais após o preenchimento de canais radiculares de dentes de cães com uma associação da solução de LPS e hidróxido de cálcio, comprovando a inativação da endotoxina pelo hidróxido de cálcio.

No presente estudo o LPS foi introduzido previamente ao canal radicular, pelo período de 10 dias, para difusão do mesmo no sistema de canais radiculares. Após este período foi estudada a ação do preparo biomecânico coadjuvado por diferentes soluções irrigadoras e da sua associação ao curativo de demora à base de hidróxido de cálcio, buscando uma situação mais próxima à clínica na qual o LPS bacteriano está presente no sistema de canais radiculares anteriormente aos procedimentos endodônticos.

Assim, considerando a presença do LPS bacteriano nos dentes com lesão periapical e os seus efeitos sobre os tecidos apicais e periapicais, torna-se evidente a importância de substâncias com

capacidade de inativar seus efeitos virulentos durante o tratamento endodôntico, destacando o emprego do hidróxido de cálcio como único medicamento capaz de ser empregado *in vivo*, para inativação da endotoxina presente no sistema de canais radiculares de dentes sem vitalidade pulpar e com reação periapical crônica.

Conclusão

Nas condições experimentais em que esta pesquisa foi conduzida e, com base nos resultados obtidos, pôde-se concluir que:

- A endotoxina bacteriana (LPS) promoveu o desenvolvimento de reação inflamatória periapical e reabsorção dos tecidos mineralizados.
- O preparo biomecânico coadjuvado por diferentes soluções irrigadoras (solução de hipoclorito de sódio a 1,0; 2,5 e 5%, solução de digluconato de clorexidina a 2,0% ou soro fisiológico) não foi capaz de inativar o efeito tóxico da endotoxina, uma vez que o reparo dos tecidos apicais e periapicais destes grupos foi insatisfatório e semelhante ao controle, onde o LPS foi mantido nas canais radiculares ($p > 0,05$).
- O emprego de pasta à base de hidróxido de cálcio (Calen) como curativo de demora, após o preparo biomecânico, foi capaz de inativar os efeitos tóxicos da endotoxina *in vivo*, confirmada pela suave resposta inflamatória observada nos tecidos apicais e periapicais no grupo VII.

Referências bibliográficas*

- 1 ABRAMSON, I.I. A frank appraisal of the present status of the bacteria cultura test as a routine endodontic procedure. Presented at the annual meeting of the American Association of endodontics, Feb. 1961, Chicago, Ill., and personal communication apud ZELDOW, B.J., INGLE, J.I. Correlation of the positive culture to the prognosis culture to the prognosis of endodontically treated teeth in a clinical study. *J. Am. Dent. Assoc.*, v.66, p.23-7, 1963.
- 2 AIBEL, K., STEVENS, R. Effect of chlorhexidine on IL-6 induction by LPS. *J. Endod.*, v.25, p.282, 1999. (Abstract).
- 3 ALLARD, U., STRÖNGBERG, U., STRÖNGBERG, T. Endodontic treatment of experimentally induced apical periodontitis in dogs. *Endod. Dent. Traumatol.*, v.3, p.240-4, 1987.
- 4 ALMEIDA, W.A. *Diferentes técnicas de tratamento de canais radiculares em dentes de cães com reação periapical crônica. Estudo radiográfico e histobacteriológico da reparação apical e periapical.* Araraquara, 1993. 155p. Dissertação (Mestrado em Endodontia)-Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.

* UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Coordenadoria Geral de Bibliotecas, Editora UNESP. *Normas para publicações da UNESP.* São Paulo: Editora UNESP, 1994. 4v., v.2. Referências bibliográficas.

- 5 ANDREANA, S., PÉCOR, G., FABI, M., ANDREANA, G., DUNFORD, R.G., REYNOLDS, H., ZAMBON, J.J. Presence of anaerobic bacteria in persistent endodontic lesions following conventional therapy. *J. Dent. Res.*, v.72, p.404, 1993.(Abstract 2403).
- 6 ANDREASEN, J.O., ANDREASEN, F.M. *Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth*. 3rd.ed. Copenhagen: Munksgaard, 1994. 771p.
- 7 ANDREASEN, J.O., ANDREASEN, F.M., BAKLAND, L.K. *Manual de traumatismo dental*. São Paulo: Artes Médicas, 2000. 64p.
- 8 AQRABAWI, J., SCHILDER, H., TOSELLI, P., FRANZBLAU, C. Biochemical and histochemical analysis of the enzyme arylsulfatase in human lesions of endodontic origin. *J. Endod.*, v.19, p.335-8, 1993.
- 9 ASSED, S. *Prevalência de microrganismos em canais radiculares de dentes humanos com reação periapical crônica. Efeito do preparo biomecânico e do curativo de demora. Imunofluorescência indireta e cultura*. Ribeirão Preto, 1994. 110p. Tese (Livre-Docência em Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo.

- 10 ASSED, S., LEONARDO, M.R., SILVA, L.A.B., LOPATIN, D. Anaerobic microorganisms in root canals of human teeth with chronic apical periodontitis detected by indirect immunofluorescence. *Endod. Dent. Traumatol.*, v.12, p.66-8, 1996.
- 11 AYHAN, H., SULTAN, N., ÇIRAK, M., RUHI, M.Z., BODUR, H. Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms. *Int. Endod. J.*, v.32, p.99-102, 1999.
- 12 BARKER, B.C.W., LOCKETT, B.C. Endodontic experiments with resorbable paste. *Aust. Dent. J.*, v.16, p.364-72, 1971.
- 13 BARTHEL, C.R., LEVIN, L.G., REISNER, H.M., TROPE, M. TNF- α release in monocytes after exposure to calcium hydroxide treated *Escherichia coli* LPS. *Int. Endod. J.*, v.30, p.155-9, 1997.
- 14 BAUMGARTNER, J.C., CUENIN, P.R. Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation. *J. Endod.*, v.18, p.605-12, 1992.
- 15 BENATTI NETO, C. *Tratamento de perfurações radiculares com pastas de hidróxido de cálcio e iodofórmio – emprego de diferentes veículos. Estudo histológico em dentes de cães.* Bauru, 1984. 109p. Tese (Doutorado em Diagnóstico Oral) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo.

- 16 BERBERT, A. *Comportamento dos tecidos apicais e periapicais após biopulpectomia e obturação do canal radicular com AH26, hidróxido de cálcio ou mistura de ambos – estudo biológico em dentes de cães*. Bauru, 1978. 152p. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo.
- 17 BERBERT, F.L.C.V. *Avaliação histológica da reparação apical e periapical pós-tratamento endodôntico de dentes de cães com reação periapical crônica induzida, em função do curativo de demora com Calen/PMCC ou Calasept ou AH Plus*. Bauru, 1999, 306p. Tese (Doutorado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo.
- 18 BERG, J.O., NORD, C-E. A method for isolation of anaerobic bacteria from endodontic specimens. *Scand. J. Dent. Res.*, v.81, p.163-6, 1973.
- 19 BERUTTI, E., MARINI, R., ANGERETTI, A. Penetration ability of different irrigants into dentinal tubules. *J. Endod.*, v.23, p.725-7, 1997.
- 20 BLIX, I.J.S., HELGELAND, K. LPS from *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and production of nitric oxide in murine macrophages J774. *Eur. J. Oral Sci.*, v.106, p.576-81, 1998.
- 21 BONETTI FILHO, I. *Avaliação da biocompatibilidade de quatro técnicas de obturação de canais radiculares. Estudo em dentes de cães*. Araraquara, 1990. 110p. Tese (Doutorado em Dentística Restauradora) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.

- 22 BONETTI FILHO, I. *Tratamento de canal radicular de dentes de cães com necrose pulpar e lesão periapical crônica induzida, realizado em sessão única e duas sessões, utilizando três diferentes curativos de demora. Avaliação radiográfica, histopatológica e histomicrobiológica.* Araraquara, 2000. 336p. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- 23 BROWNE, R.M. Animal tests for biocompatibility of dental materials-relevance, advantages and limitations. *J. Dent.*, v.22, suppl.2, p.S21-S24, 1994.
- 24 BUCK, R.A., CAI, J., ELEAZER, P.D., STAAT, R.H., HURST, H.E. Detoxification of endotoxin by endodontic irrigants and calcium hydroxide. *J. Endod.*, v.27, p.325-7, 2001.
- 25 BUTTLER, T.K., CRAWFORD, J.J. The detoxifying effect of varying concentrations of sodium hypochlorite on endotoxins. *J. Endod.*, v.8, p.59-66, 1982.
- 26 BYSTROM, A., SUNDQVIST, G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand. J. Dent. Res.*, v.89, p.321-8, 1981.

- 27 BYSTROM, A., SUNDQVIST, G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.55, p.307-12, 1983.
- 28 BYSTROM, A., SUNDQVIST, G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int. Endod. J.*, v.18, p.35-40, 1985.
- 29 CALLIS, P.D. Tissue response to retrograde root fillings in the ferret canine: a comparison of a glass ionomer cement and gutta percha with sealer. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.64, p.475-9, 1987.
- 30 CITROME, G.P., KAMINSKI, E.J., HEUER, M.A. A comparative study of tooth apexification in dog. *J. Endod.*, v.5, p.290-7, 1979.
- 31 COHEN, S., BURNS, R.C. *Caminhos da polpa*. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 759p.
- 32 COTRAN, R.S., KUMAR, V., ROBBINS, S.L. *Robbins- Patologia estrutural e funcional*. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 1231p.
- 33 COTTI, E., TORABINEAD, M. Detection of leukotriene C4 in human periradicular lesions. *Int. Endod. J.*, v.27, p.82-6, 1994.
- 34 DAHLÉN, G., BERGENHOLTZ, G. Endotoxic activity in teeth with necrotic pulps. *J. Dent. Res.*, v.59, p.1033-49, 1980.

- 35 DAHLÉN, G., MAGNUSSON, B.C., MOLLER, A. Histological and histochemical study of the influence of lipopolysaccharide extracted from *Fusobacterium nucleatum* on the periapical tissues in the monkey *Macaca fascicularis*. *Arch. Oral. Biol.*, v.26, p.591-8, 1981.
- 36 DAY, A.E., LANGKAMP, H.H., BOWEN, L.L., ASCENCIO, F., AGARWAL, S., PIESCO, N.P. Signal transduction during LPS-mediated activation of pulp fibroblasts. *J. Dent. Res.*, v.77, p.673, sp.iss.B, 1998. (Abstract 330).
- 37 DWYER, T.G., TORABINEJAD, M. Radiographic and histologic evaluation of the effect of endotoxin on the periapical tissues of the cat. *J. Endod.*, v.7, n.1, p.31-5, 1981.
- 38 FABRICIUS, L., DAHLÉN, G., OHMAN, A.E., MOLLER, A.J. Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure. *Scand. J. Dent. Res.*, v.90, p.134-44, 1982.
- 39 FISCHER, R., HUERTA, J. Effects of pH on microbial flora of necrotic root canals. *J. Endod.*, v.10, p.153-5, 1984.
- 40 FOLEY, D.B., WEINE, F.S., HAGEN, J.C., OBARRIO, J.J. Effectiveness of selected irrigants in the elimination of *Bacteroides melaninogenicus* from the root canal system: *in vitro*. *J. Endod.*, v.9, p.236-41, 1983.
- 41 FOUAD, A.F., WALTON, R.E., RITTMAN, B.R. Induced periapical lesions in ferret canines: histologic and radiographic evaluation. *Endod. Dent. Traumatol.*, v.8, p.56-62, 1992.

- 42 FOUAD, A.F., WALTON, R.E., RITTMAN, B.R. Healing of induced periapical lesions in ferret canines. *J. Endod.*, v.19, p.123-9, 1993.
- 43 GEORGOPOULOU, M., KONTAKIOTIS, E., NAKOU, M. Evaluation of the antimicrobial effectiveness of citric acid and sodium hypochlorite on the anaerobic flora of the infected root canal. *Int. Endod. J.*, v.27, p.139-43, 1994.
- 44 GOMES, B.P.F.A., DRUCKER, D.B., LILLEY J.D. Association of specific bacteria with some endodontic signs and symptoms. *Int. Endod. J.*, v.27, p.291-8, 1994.
- 45 GOMES, B.P.F.A., LILLEY, J.D., DRUCKER, D.B. Association of endodontic symptoms and signs with particular combinations of specific bacteria. *Int. Endod. J.*, v.29, p.69-75, 1996.
- 46 GOMES, B.P.F.A., LILLEY, J.D., DRICKER, D.B. Variations in the susceptibilities of components on the endodontic microflora to biomechanical procedures. *Int. Endod. J.*, v.29, p.235-41, 1996.
- 47 GRECCA, F.S. *Avaliação radiográfica da reparação apical pós tratamento de canais radiculares de dentes de cães, com lesão periapical crônica induzida, utilizando-se dois diferentes curativos de demora à base de hidróxido de cálcio e dois cimentos obturadores de canal radicular.* Araraquara, 1999. 250p. Dissertação (Mestrado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.

- 48 GREENSTEIN, G., BERMAN, C., JAFFIN, R. Chlorhexidine. An adjunct to periodontal therapy. *J. Periodontol.*, v.57, p.370-6, 1986.
- 49 GUTIÉRREZ, J.H., JOFRÉ, A., VILLENA, F. Scanning electron microscopic study on the action of endodontic irrigants on bacteria invading the dentinal tubules. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.69, p.491-501, 1990.
- 50 HAUSMANN, E., RAIZ, L.G., MILLER, W.A.S. Endotoxin: stimulation of bone resorption in tissue culture. *Science*, v.168, p.862-4, 1970.
- 51 HELING, I., CHANDLER, N.P. Antimicrobial effect of irrigant combinations within dentinal tubules. *Int. Endod. J.*, v.31, p.8-14, 1998.
- 52 HIRAFUJI, M., SHINODA, H. Increased prostaglandin I₂ and thromboxane A₂ production by rat dental pulp after intravenous administration of endotoxin. *Arch. Oral Biol.*, v.39, p.995-1000, 1994.
- 53 HOLLAND, R., SOUZA, V. Ability of a new calcium hydroxide root canal filling material to induce hard tissue formation. *J. Endod.*, v.11, p.535-43, 1985.

- 54 HOLLAND, R., SOUZA, V. Tratamento conservador da polpa dental.
In: LEONARDO, M.R., LEAL, J.M. *Endodontia: tratamento de canais radiculares*. 3.ed. São Paulo: Panamericana, 1998.p.63-75.
- 55 HOLLAND, R., VALLE, G.F., TAINTOR, J.F., INGLE, J.I. Influence of bone resorption on endodontic treatment. *Oral Surg. Oral Med., Oral Pathol.*, v.55, p.191-203, 1983.
- 56 HOLLAND, R., MELLO, W., SOUZA, V., NERY, M.J., BERNABÉ, P.F.E., OTOBONI FILHO, J.A. Comportamento dos tecidos periapicais de dentes de cães após a obturação de canal com Sealapex acrescido ou não de iodofórmio. *Rev. Odontol. UNESP*, v.19, p.97-104, 1990.
- 57 HOLLAND, R., SOUZA, V., NERY, M.J., MELLO, W., BERNABÉ, P.F.E., OTOBONI FILHO, J.A. Root canal treatment of pulpless teeth with calvital or zinc oxide-eugenol, in one of two sittings. *Rev. Fac. Odontol. Araçatuba*, v.7, p.47-51, 1978.
- 58 HOLLAND, R., SOUZA, V., NERY, M.J., BERNABÉ, P.F.E., MELLO, W., BERNABÉ, P.F.E., OTOBONI FILHO, J.A. Comportamento dos tecidos periapicais de dentes de cães com rizogênese incompleta após obturação de canal com diferentes materiais obturadores. *Rev. Bras. Odontol.*, v.49, p.49-53, 1992.

- 59 HOOK, W.A., SNYDERMAN, R., MERGENHAGEN, S.E. Histamine releasing factor generated by the interaction of endotoxin with hamster serum. *Infect. Immun.*, v.2, p.462-7, 1970.
- 60 HORIBA, N., MAEKAWA, Y., ABE, Y., ITO, M., MATSUMOTO, T., NAKAMURA, H. Correlations between endotoxin and clinical symptoms or radiolucent areas in infected root canals. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.71, p.492-5, 1991.
- 61 HORIBA, N., MAEKAWA, Y., YAMAUCHI, Y., ITO, M., MATSUMOTO, T., NAKAMURA, H. Complement activation by lipopolysaccharides purified from gram-negative bacteria isolated from infected root canals. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.74, p.648-51, 1992.
- 62 HORIBA, N., MAEKAWA, Y., ABE, Y., ITO, M., MATSUMOTO, T., NAKAMURA, H., OZEKI, M. Citotoxicity against various cell lines of lipopolysaccharides purified from bacteroides, fusobacterium, and veillonella isolated from infected root canals. *J. Endod.*, v.15, p.530-4, 1989.
- 63 ITO, H-O., SHUTO, T., TAKADA, H., KOGA, T., AIDA, Y., HIRATA, M., KOGA, T. Lipopolysaccharides from *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* promote osteoclastic differentiation *in vitro*. *Arch. Oral Biol.*, v.41, p.439-44, 1996.

- 64 ITO, I.Y., SOUZA-GUGELMIN, M.C.M., LIMA, S.N.M. *Assepsia e anti-sepsia em Endodontia. Biossegurança: controle de infecção.* In: LEONARDO, M.R., LEAL, J.M. *Endodontia – tratamento de canais radiculares.* 3. ed. São Paulo: Panamericana, 1998. p.261-97.
- 65 JEANSONNE, M.J., WHITE, R.R. A comparison of 2,0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. *J. Endod.*, v.20, p.276-8, 1994.
- 66 KAKEHASHI, S., STANLEY, H.R., FITZGERALD, R.J. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ- free and conventional laboratory rats. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.20, p.340-9, 1965.
- 67 KATEBZADEH, N., HUPP, J., TROPE, M. Histological periapical repair after obturation of infected root canals in dogs. *J. Endod.*, v.25, p.364-8, 1999.
- 68 KETTERING, J.D., TORABINEJAD, M. Presence of natural killer cells in human chronic periapical lesions. *Int. Endod. J.*, v.26, p.344-7, 1993.
- 69 KEUDELL, K., POWELL, G. DIEMER, R. Humoral antibodies to anaerobic bacteria isolated from patients with pulpal-periapical disease. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.53, p.194-7, 1982.

- 70 KOBAYASHI, T., HAYASHI, A., HOSHIKAWA, R., OKUDA, K., HARA, K. The microbial flora from root canals and periodontal pockets of non-vital teeth associated with advanced periodontitis. *Int. Endod. J.*, v.23, p.100-6, 1990.
- 71 KUMADA, H., HAISHIMA, Y., UMEMOTO, T., TANAMOTO, K-I. Structural study on the free lipid A isolated from lipopolysaccharide of *Porphyromonas gingivalis*. *J. Bacteriol.*, v.177, p.2098-106, 1995.
- 72 LEBEAU, A. L'age du chien et celui de l'homme. Essai de statistique sur la mortalité canine. *Bull. Acad. Vet. Fr.*, v.26, p.229-32, 1953.
- 73 LEONARDO, M.R. Condições bacteriológicas do canal radicular-relações com o tratamento endodôntico. *Rev. Bras. Odontol.*, v.25, p.489-96, 1967.
- 74 LEONARDO, M.R. Preparo biomecânico dos canais radiculares. Definição, conceituação, finalidades, importância, recursos para aplicação e meios químicos (soluções irrigadoras). IN: LEONARDO, M.R., LEAL, J.M. *Endodontia: tratamento de canais radiculares*. 3.ed. São Paulo: Panamericana, 1998. p.491-534.
- 75 LEONARDO, M.R., SILVA, L.A.B.S. Medicação tópica entre sessões, "curativo de demora" em biopulpectomia e necropulpectomia. In: LEONARDO, M.R., LEAL, J.M. *Endodontia: tratamento de canais radiculares*. 3.ed. São Paulo: Panamericana, 1998. p.491-534.

- 76 LEONARDO, M.R., SILVA, L.A.B., LEONARDO, R.T. *Devemos usar medicação intracanal no tratamento de dentes com necrose pulpar?* In:?. *Odontologia integrada: atualização multidisciplinar para o clínico e o especialista*. Rio de Janeiro: Editora Pedro Primeiro Ltda., 1999. p.179-95.
- 77 LEONARDO, M.R., ALMEIDA, W.A., ITO, I.Y., SILVA, L.A. Radiographic and microbiologic evaluation of posttreatment apical and periapical repair of root canals of dog's teeth with experimentally induced chronic lesion. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.78, p.232-8, 1994.
- 78 LEONARDO, M.R., ALMEIDA, W.A., SILVA, L.A.B., UTRILLA, L.S. Histopathological observations of periapical repair in teeth with radiolucent areas submitted to two different methods of root canal treatment. *J. Endod.*, v.21, p.137-41, 1995.
- 79 LEONARDO, M.R., UTRILLA, L.S., ASSED, S., SILVA, L.A.B. Avaliação histopatológica dos tecidos apicais e periapicais de dentes de cães após biopulpectomia e utilização de diferentes curativos de demora. *Rev. Bras. Odontol.*, v.32, n.1, p.14-9, 1996.
- 80 LEONARDO, M.R., SILVA, L.A.S.B., LEONARDO, R.T., UTRILLA, L.S., ASSED, S. Histological evaluation of therapy using a calcium hydroxide dressing for teeth with incompletely formed apices and periapical lesions. *J. Endod.*, v.19, p.348-52, 1993.

- 81 LEONARDO, M.R., SILVA, L.A.B., TANOMARU FILHO, M., BONIFÁCIO, K.C., ITO, I.Y. *In vitro* evaluation of antimicrobial activity of sealers and pastes used in Endodontics. *J. Endod.*, v.26, p.391-4, 2000.
- 82 LEONARDO, M.R., SILVA, L.A.B., UTRILLA, L.S., ASSED,S., ETHER, S.S. Calcium hydroxide root canal sealers – histopathologic evaluation of apical and periapical repair after endodontic treatment. *J. Endod.*, v.23, p.428-32, 1997.
- 83 LEONARDO, M.R., TANOMARU FILHO, M., SILVA, L.A.B., NELSON FILHO, P., BONIFÁCIO, K.C., ITO, I.Y. In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigant solution. *J. Endod.*, v.25, p.167-71, 1999.
- 84 LEVIN, L.G., CONRAD, S., TROPE, M. Expression of HSF1 and HSF2 by human odontoblasts exposed to LPS. *J. Dent. Res.*, v.77, sp iss.B, p.799, 1998. (Abstract 1344).
- 85 LOMÇALI, G., SEM, B.H., ÇANKAYA, H. Scanning electron microscopic observations of apical root surfaces of teeth with apical periodontitis. *Endod. Dent. Traumatol.*, v.12, p.70-6, 1996.
- 86 LOPES, H. P., COSTA FILHO, A. S., JONES Jr., J. O emprego do hidróxido de cálcio associado ao azeite de oliva. *RGO*, v.34, p.306-13, 1986.

- 87 Mc CORMICK, J.E., WEINE, F.S., MAGGIO, J.D. Tissue pH of development periapical lesions in dogs. *J. Endod.*, v.9, p.47-51, 1983.
- 88 Mc GEE, J.O'D., ISAACSON, P.G., WRIGHT, N.A. *Oxford textbook of pathology. Principles of pathology*. Oxford: University Press, 1992. 895p.
- 89 MATSUSHITA, K., TAJIMA, T., TAKADA, H., NAGAOKA, S., TORII, M. Inflammatory cytokine production and specific antibody responses to lipopolysaccharide from endodontopathic black-pigmented bacteria in patients with multilesional periapical periodontitis. *J. Endod.*, v.25, p.765-95, 1999.
- 90 MATTISON, G.D., HADDIX, J.E., KEHOE, J.C., PROGULSKE-FOX, A. The effect of *Eikenella corrodens* endotoxin on periapical bone. *J. Endod.*, v.13, p.559-65, 1987.
- 91 MATTOS, A.F.R. *Avaliação radiográfica e histopatológica do reparo apical e periapical de dentes de cães com necrose pulpar e reação experimentalmente induzida. Efeito de neutralização e do curativo de demora*. Araraquara, 2001. 345 p. Dissertação (Mestrado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- 92 MICHELICH, V.J., SCHUSTER, G.S., PASHLEY, D.H. Bacterial penetration of human dentin *in vitro*. *J. Dent. Res.*, v.59, p.1398-403, 1980.

- 93 MILLER, G.A, DeMAYO, T., HUTTER, J.W. Production of interleukin-1 by polymorphonuclear leukocytes resident in periradicular tissue. *J. Endod.*, v.22, p.346-51, 1996.
- 94 MOLLER, A.J.R., FABRICIUS, L., DAHLÉN, G., OHMAN, A.E, HEYDEN, G. Influence of periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scand. J. Dent. Res.*, v.89, p.475-84, 1981.
- 95 MORRISON, B., KLINE, L. Activation of classical and properdin pathways of complement by bacterial lipopolysaccharides (LPS). *J. Immunol.*, v.118, p.362-8, 1977.
- 96 MORSE, D.R. The endodontic culture technique: an impractical and unnecessary procedure. *Dent. Clin. North Am.*, v.15, p.793-806, 1971.
- 97 MORSE, D.R. Endodontic microbiology in the 1970s. *Int. Endod. J.*, v.14, p.69-79, 1981.
- 98 MUNFORD, R.S., HALL, C.L. Detoxification of bacterial lipopolysaccharides (endotoxins) by a human neutrophil enzyme. *Science*, v.234, p.203-5, 1986.
- 99 NAGAOKA, S., TOKUDA, M., SAKUTA, T., TAKETOSHI, Y., TAMURA, M., TAKADA, H., KAWAGOE, M. Interleukin-8 gene expression by human dental pulp fibroblast in cultures stimulated with *Prevotella intermedia* lipopolysaccharide. *J. Endod.*, v.22, n.1, p.9-12, 1996.

- 100 NAKANE, A., YOSHIDA, T., NAKATA, K., HORIBA, N., NAKAMURA, H. Effects of lipopolysaccharides on human dental pulp cells. *J. Endod.*, v.21, p.128-30, 1995.
- 101 NELSON FILHO, P. *Efeito da endotoxina (LPS), associada ou não ao hidróxido de cálcio, sobre os tecidos apicais e periapicais de dentes de cães*. Araraquara, 2000. 107p. Tese (Doutorado em Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- 102 NIKOLAUS, B.E., WAYMAN, B.E., ENCINAS, E. The bactericidal effect of citric acid and sodium hypochlorite on anaerobic bacteria. *J. Endod.*, v.14, n.1, p.31-4, 1988.
- 103 NISSAN, R., SEGAL, H., PASHLEY, D., STEVENS, R., TROWBRIDGE, H. Ability of bacterial endotoxin to diffuse through human dentin. *J. Endod.*, v.21, p.62-4, 1995.
- 104 NIWA, M., MILNER, K.C., RIBI, E., RUDBACH, J.A. Alteration of physical chemical, and biological properties of endotoxin by treatment with mild alkali. *J. Bacteriol.*, v.97, p.1069-77, 1969.
- 105 OLSEN, M.H., DIFIORE, P.M., DIXIT, S.N., VEIS, AS. The effects of calcium hydroxide inhibition on LPS induced release of IL-1 β from human monocytes in whole blood. *J. Endod.*, v.25, p.289, 1999.

- 106 OPAL, S.M., SCANNON, P.J., VINCENT, J.L., WHITE, M., CARROLL, S.F., PALARDY, J.E., PAREJO, N.A., PRIBBLE, J.P., LEMKE, J.H. Relationship between plasma levels of lipopolysaccharide (LPS) and LPS-binding protein in patients with severe sepsis and septic shock. *J. Infect. Dis.*, v.180, p.1584-9, 1999.
- 107 OTOBONI FILHO, J.A. *Processo de reparo de dentes de cães com lesão periapical após tratamento endodôntico em uma ou duas sessões: influência do tempo de curativo de demora e do tipo de material obturador*. Araçatuba, 2000. 336p. Tese (Livre-Docência) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- 108 PATERSON, R.C., WATTS, A. Pulpal involvement and endodontic treatment. In: ELDERTON, B.J. (Ed). *The dentition and dental care*. Oxford: Heinemann Medical Books, 1990. chap 15.
- 109 PINERO, G.J., KIATPONGSAH, S., HUTCHINS, M.O., HOOVER, J. The effect of endotoxins on the synthesis of connective tissue matrix components by pulp fibroblasts *in vitro*. *J. Endod.*, v.9, n.1, p.2-7, 1983.
- 110 PITT FORD, T.R. The effects on the periapical tissues of bacterial contamination of the filled root canal. *Int. Endod. J.*, v.15, n.1, p.16-22, 1982.

- 111 PITT FORD, T.R. The radiographic detection of periapical lesion in dogs. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.57, p.662-7, 1984.
- 112 PITTS, D.L., WILLIAMS, B.L., MORTON Jr., T.H. Investigation of the role of endotoxin in periapical inflammation. *J. Endod.*, v.8, n.1, p.10-5, 1982.
- 113 QUEIROZ, C. E. S. *Avaliação da ação do hidróxido de cálcio sobre LPS bacteriano através da liberação de óxido nítrico e TNF- α em cultura de macrófagos peritoneais de camundongos.* Araraquara, 2001. 162p. Tese (Doutorado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- 114 RIBEIRO, F.C., CONSOLARO, A. Bacterias nas estruturas mineralizadas de doenças com necrose pulpar e granuloma apical. *Rev. Dent. Press Biol. Oral*, v.1, n.1, p.17-30, 2000.
- 115 RIETSCHER, E.T., BRADE, H. Bacterial endotoxins. *Sci. Am.*, v.267, p.54-61, 1992.
- 116 ROBINSON, P.J., SHAPIRO, I.M. The effect of endotoxin and human dental plaque on the respiratory rate of bone cells. *J. Periodontal Res.*, v.10, p.305-8, 1975.
- 117 ROCHA, R.S.S., ROSA, O.P.S., MITSUNAGA, M.A. Detecção de anticorpos IgG para *Porphyromonas gingivalis* (*Bacteroides gingivalis*) e *Prevotella intermedia* (*Bacteroides intermedius*) em lesões periapicais crônicas pela técnica de imunofluorescência indireta. *Rev. Fac. Odontol. Bauru*, v.1, p.13-7, 1993.

- 118 RODRIGUES, H.H., BIFFI, J.G.C. A histobacteriological assessment of nonvital teeth after ultrasonic root canal instrumentation. *Endod. Dent. Traumatol.*, v.5, p.182-7, 1989.
- 119 ROWE, A.H.R. Problems of intracanal testing of endodontic materials. *Int. Endod. J.*, v.13, p.96-103, 1980.
- 120 ROWE, A.H.R. A study of the effect of various filling materials on dental pulp and periapical tissues. MDS. Thesis University of London, 1965 apud SILVA, L.A.B. *Cimentos obturadores de canal radicular à base de hidróxido de cálcio-Avaliação histopatológica do reparo apical e periapical em dentes de cães, da resposta inflamatória em tecido subcutâneo e cavidade peritoneal de camundongos. Análise de pH, concentração de cálcio total e condutividade.* Ribeirão Preto, 1995. 191p. Tese – (Livre-Docência) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo.
- 121 SAFAVI, K.E., NICHOLS, F.C. Effect of calcium hydroxide on bacterial lipopolysaccharide. *J. Endod.*, v.19, p.76-8, 1993.
- 122 SAFAVI, K.E., NICHOLS, F.C. Alteration of biological properties of bacterial lipopolysaccharide by calcium hydroxide treatment. *J. Endod.*, v.20, p.127-9, 1994.

- 123 SCHEIN, B., SCHILDER, H. Endotoxin content in endodontically involved teeth. *J. Endod.*, v.1, n.1, p.19-21, 1975.
- 124 SCHONFELD, S.E., GREENING, A.B., GLICK, D.D., FRANK, A.L., SIMON, J.H., HERLES, S.M. Endotoxic activity in periapical lesions. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.53, p.82-7, 1982.
- 125 SEGAL, H., STEVENS, R.H., TROWBRIDGE, H., PASHLEY, D.H. Permeability of human dentin to bacterial endotoxin. *J. Dent. Res.*, v.69, sp.iss., p.355, 1990. (Abstract 1973).
- 126 SELTZER, S., FARBER, P.A. Microbiologic factors in endodontology. *Oral Surg.*, v.78, p.634-45, 1994.
- 127 SELTZER, S., BENDER, I.B., TURKENKOPF. Factors affecting successful repair of root canal therapy. *J. Am. Dent. Assoc.*, v.67, p.651-61, 1963.
- 128 SHABANHANG, S., TORABINEJAD, M., BOYNE, P.P., ABEDI, H., McMILLAN, P. A comparative study of root end induction using osteogenic protein-1, calcium hydroxide and mineral trioxide aggregate in dogs. *J. Endod.*, v.25, n.1, p.1-5, 1999.
- 129 SILVA, L.A.B. *Rizogênese incompleta-Efeitos de diferentes pastas à base de hidróxido de cálcio na complementação radicular e na reparação periapical em dentes de cães. Estudo histológico.* Araraquara, 1988. 171p. Dissertação (Mestrado em Odontopediatria)- Faculdade de Odontologia , Universidade Estadual Paulista.

- 130 SILVA, L.A.B. *Rizogênese incompleta- Efeito dos curativos de “demora” e “expectante”, no tratamento de canais radiculares de dentes de cães com reação periapical crônica. Avaliação radiográfica e histopatológica.* Araraquara, 1991. 193p. Tese (Doutorado em Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- 131 SILVA, L.A.B. *Cimentos obturadores de canal radicular à base de hidróxido de cálcio – avaliação histopatológica do reparo apical e periapical em dentes de cães, da resposta inflamatória em tecido subcutâneo e da migração celular em cavidade peritoneal de camundongos. Análise do pH, concentração de cálcio total e condutividade.* Ribeirão Preto, 1995. 191p. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo.
- 132 SILVA, L.A.B., LEONARDO, M.R., FACCILOLO, L.H., FIGUEIREDO, F. Inflammatory response to calcium hydroxide based root canal sealers. *J. Endod.*, v.23, p.86-90, 1997.
- 133 SILVA, L.A.B., LEONARDO, M.R., SILVA, R.S., ASSED, S., GUIMARÃES, L.F.L. Calcium hydroxide root canal sealers: evaluation of pH, calcium ion concentration and conductivity. *Int. Endod. J.*, v.30, p.205-9, 1997.

- 134 SILVEIRA, F.F. *Efeito do tempo de ação do curativo de demora à base de hidróxido de cálcio, utilizado em canais radiculares de dentes de cães com lesão periapical crônica induzida. Análise histopatológica e microbiológica.* Araraquara, 1997. 218p. Dissertação (Mestrado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- 135 SJÖGREN, U., SUNDQVIST, G. Bacteriologic evaluation of ultrasonic root canal instrumentation. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.63, p.366-70, 1987.
- 136 SJÖGREN, U., FIDGOR, D., PERSSON, S., SUNDQVIST, G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int. Endod. J.*, v.30, p.297-306, 1997.
- 137 SOARES, J.A. *Efeito microbiológico dos canais radiculares, histopatológico e histobacteriológico dos tecidos apicais e periapicais, em função do preparo biomecânico e de dois curativos de demora à base de hidróxido de cálcio, utilizados em dois períodos de avaliação, no tratamento endodôntico de dentes de cães, com reação periapical crônica induzida.* Araraquara, 1999. 455p. Dissertação (Mestrado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.

- 138 STASHENKO, P. The role of immune cytokines in the pathogenesis of periapical lesions. *Endod. Dent. Traumatol.*, v.6, p.89-96, 1990.
- 139 STASHENKO, P., YU, S.M., WANG, C-Y. Kinetics of immune cell and bone resorptive responses to endodontic infection. *J. Endod.*, v.18, p.422-6, 1992.
- 140 STERN, M.H., DREIZEN, S., MACKLER, B.F., LEVY, B.M. Antibody-producing cells in human periapical granulomas and cysts. *J. Endod.*, v.7, p.447-52, 1981.
- 141 SUNDQVIST, G. *Bacterial studies of necrotic pulps*. Sweden, 1976. Dissertation n.7, Umea University Odontological.
- 142 SUNDQVIST, G. Ecology of the root canal flora. *J. Endod.*, v.18, p.427-3, 1992.
- 143 SUNDQVIST, G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.78, p.522-30, 1994.
- 144 SUNDQVIST, G., JOHANSSON, E., SJÖGREN, U. Prevalence of black-pigmented *Bacteroides* species in root canal infections. *J. Endod.*, v.15, n.1, p.13-9, 1989.
- 145 TAKAYAMA, S., MIKI, Y., SHIMAUCHI, H., OKADA, H. Relationship between prostaglandin E₂ concentrations in periapical exudates from root canals and clinical findings of periapical periodontitis. *J. Endod.*, v.22, p.677-80, 1996.

- 146 TANI, N., TOMINAGA, N., OSADA, T., WATANABE, K., UMEMOTO, T. Immunological activities of bacteria isolated from the root canals of postendodontic teeth with persistent periapical lesions. *J. Endod.*, v.18, p.58-62, 1992.
- 147 TANI-ISHII, N., WANG, C.Y., TANNER, A., STASHENKO, P. Changes in root canal microbiota during the development of rat periapical lesions. *Oral Microbiol. Immunol.*, v.9, p.129-35, 1994.
- 148 TANI-ISHII, N., KUCHIBA, K., OSADA, T., WATANABE, Y., UMEMOTO, T. Effect of T-cell deficiency on the formation of periapical lesions in mice: histological comparison between periapical lesion formation in BALB/c and BALB/C nu/nu mice. *J. Endod.*, v.21, p.195-9, 1995.
- 149 TANOMARU FILHO, M. *Comportamento dos tecidos apicais e periapicais de dentes de cães portadores de reação periapical crônica em função da técnica de neutralização do conteúdo séptico-tóxico e do cimento obturador empregado no tratamento endodôntico. Avaliação radiográfica e histopatológica.* Araraquara, 1996. 296p. Tese (Doutorado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- 150 TANOMARU FILHO, M. *Reparo apical e periapical após tratamento endodôntico em dentes com reação periapical crônica em função da solução irrigadora e do curativo de demora – estudo em cães. Resposta inflamatória após injeção de diferentes soluções irrigadoras – Estudo em camundongos.* Araraquara, 2001. 333p. Tese (Livre-Docência) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.

- 151 TER STEEG, P.F., van der HOEVEN, J.S. Development of periodontal microflora on human serum. *Microbial Ecol. Health Dis.* v.2, p.1-10, 1989 apud SUNDQVIST, G. Ecology of the root canal flora. *J. Endod.*, v.18, p.427-30, 1992.
- 152 TORABINEJAD, M., EBY, W.C., NAIDORF, I.J. Inflammatory and immunological aspects of the pathogenesis of human periapical lesions. *J. Endod.*, v.11, p.479-88, 1985.
- 153 TORNECK, C.D., SMITH, J.S. Biologic effects of endodontic procedures on developing incisor teeth. I. Effect of partial and total pulp removal. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.30, p.258-66, 1970.
- 154 TRONSTAD, L. Recent development in endodontic research. *Scand. J. Dent. Res.*, v.100, p.52-9, 1992.
- 155 TRONSTAD, L., BARNETT, F., CERVONE, F. Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment. *Endod. Dent. Traumatol.*, v.6, p.73-7, 1990.
- 156 van WINKELHOFF, A.J., van STEEMBERGEN, T.J.M., GRAAFF, J. *Porphyromonas (Bacteroides) endodontalis*: its role in endodontal infections. *J. Endod.*, v.18, p.431-4, 1992.
- 157 WALTON, R.E., ARDJAMAND, K. Histological evaluation of the presence of bacteria in induced periapical lesions in monkeys. *J. Endod.*, v.18, p.216-21, 1992.

- 158 WALTON, R.E., RIVERA, E.M. Cleaning and shaping. In: WALTON, R.E., TORABINEJAD, M. *Principles and practice of endodontics*. 2.ed. Philadelphia: Saunders, 1996. cap.13, p.201-33.
- 159 WANG, C.Y., STASHENKO, P. Characterization of bone-resorbing activity in human periapical lesions. *J. Endod.*, v.19, p.107-11, 1993.
- 160 WATTS, A., PATERSON, R.C. Pulp response to, and cariogenicity of a further strain of *Streptococcus mutans*. *Int. Endod. J.*, v.25, p.142-9, 1992.
- 161 WEST, J.D., ROANE, J.B. Limpeza e modelagem do sistema de canais radiculares. In: COHEN, S., BURNS, R.C. *Caminhos da polpa*. 7.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. cap.8, p.191-242.
- 162 WITTGOW JR., W.C., SABISTON JR., C.B. Microorganisms from pulpal chambers of intact teeth with necrotic pulps. *J. Endod.*, v.1, p.168-71, 1975.
- 163 WOLFF, S. Biological effects of bacterial endotoxins in man. *J. Infect. Dis.*, v.128, p.S259-S269, 1973.
- 164 WU, M.K., MOORER, W.R., WESSELINK, P.R. Capacity of anaerobic bacteria enclosed in a simulated root canal to induce inflammation. *Int. Endod. J.*, v.22, p.269-77, 1989.

- 165 YAMASAKI, M., KUMAZAWA, M., KOHSAKA, T., NAKAMURA, H., KAMEYAMA, Y. Pulpal and periapical tissue reactions after experimental pulpal exposure in rats. *J. Endod.*, v.20, p.13-7, 1994.
- 166 YAMASAKI, M., NAKANE, A., KUMAZAWA, M., HASHIOKA, K., HORIBA, N., NAKAMURA, H. Endotoxin and gram-negative bacteria in the rat periapical lesions. *J. Endod.*, v.18, n.10, p.501-4, 1992.
- 167 YELSILSOY, C., WHITAKER, E., CLEVELAND, D., PHILLIPS, E., TROPE, M. Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. *J. Endod.*, v.21, p.513-5, 1995.
- 168 YOSHIDA, M., FUKUSHIMA, H., YAMAMOTO, K., TODA, T., SAGAWA, H. Correlation between clinical symptoms and microorganisms isolated from root canals of teeth with periapical pathosis. *J. Endod.*, v.13, n.1, p.24-8, 1987.
- 169 YOSHINUMA, N., TANAKA, K., SUZUKI, K., FUJIKAWA, K., ITO, K., MURAI, S. The inhibitory effect of endotoxins on growth of human cell lines. *J. Nihon Univ. Sch. Dent.*, v.36, p.139-44, 1994.
- 170 ZAVISTOSKI, J., DZINK, J., ONDERDONK, A., BARTLETT, J. Quantitative bacteriology of endodontic infections. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.49, p.171-4, 1980.
- 171 ZELDOW, B.J., INGLE, J.I. Correlation of the positive culture to the prognosis of endodontically treated teeth: a clinical study. *J. Am. Dent. Assoc.*, v.66, p.23-7, 1963.

TANOMARU, J.M.G. *Efeito do preparo biomecânico coadjuvado por diferentes soluções irrigadoras e do hidróxido de cálcio usado como curativo de demora sobre o LPS bacteriano. Estudo histológico em dentes de cães*. Araraquara, 2002. 159p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia, Câmpus de Araraquara, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do preparo biomecânico coadjuvado por diferentes soluções irrigadoras e da sua associação a um curativo de demora à base de hidróxido de cálcio em canais radiculares de dentes de cães contendo endotoxina (LPS bacteriano). Foram utilizados 137 raízes de pré-molares com vitalidade pulpar de 7 cães, cujos canais radiculares, após pulpectomia foram preenchidos por solução de LPS de *Eschechia coli* na concentração de 10mg/mL, por 10 dias, quando receberam os seguintes procedimentos:

Nos grupos I a V foi realizado o preparo biomecânico dos canais radiculares, coadjuvado pelas seguintes soluções irrigadoras: solução de hipoclorito de sódio a 1, 2,5 e 5% (grupos I a III); solução de digluconato de clorexidina a 2% (Grupo IV); soro fisiológico (Grupo V). No grupo VI, a solução de LPS foi mantida no canal radicular durante todo o período experimental e no grupo VII, após o preparo biomecânico coadjuvado por soro fisiológico, os canais radiculares foram preenchidos por pasta à base de hidróxido de cálcio (Calen). Decorridos 60 dias, os animais foram mortos e as peças submetidas ao processamento histológico para avaliação do reparo apical e periapical. A avaliação histopatológica

demonstrou que, os grupos I a VI, que não receberam curativo de demora apresentaram maior intensidade de infiltrado inflamatório, espessura do ligamento periodontal e reabsorção cementária e óssea ($p < 0,05$) do que o grupo VII, o qual recebeu curativo de demora à base de hidróxido de cálcio. Conclui-se que o preparo biomecânico coadjuvado por diferentes soluções irrigadoras não foi capaz de inativar a endotoxina. Porém, o emprego do curativo de demora à base de hidróxido de cálcio mostrou-se eficaz na inativação, *in vivo*, dos efeitos tóxicos da endotoxina.

Palavras-chave: Endotoxinas; ; Hidróxido de cálcio; Irrigantes do canal radicular; Medicação intracanal.

TANOMARU, J.M.G. *Effect of biomechanical preparation associated with different irrigant solutions and calcium hydroxide used as root canal dressing on bacterial LPS. Histopathological evaluation in dog's teeth.* Araraquara, 2002. 159p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia, Câmpus de Araraquara, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of biomechanical preparation with different irrigating solutions and its association with a calcium hydroxide based root canal dressing (Calen) in root canals of dog's teeth containing endotoxin (bacterial LPS). One hundred and thirty-seven root canals of pre-molars with pulp vitality from 7 mongrel dogs were used. The root canals, after pulpectomy, were filled with LPS solution from *Escherichia coli* with 10mg/mL, for 10 days. Then, they were submitted to the following treatments:

In the groups I to V, biomechanical preparation of root canals was done using the following irrigating solutions: 1, 2.5 and 5% sodium hypochlorite solution in the groups I to III; 2.0% digluconate chlorhexidine (Group IV); saline solution (Group V). In the group VI, LPS solution was maintained in the root canal during all the experimental period and in the group VII, after the biomechanical preparation using saline solution as irrigating solution, the root canals were filled with a calcium hydroxide based root canal dressing (Calen). After 60 days, the animals were killed and the obtained histological sections were processed for evaluation of the apical

and periapical repair. The histopathological evaluation showed that, the groups I to VI, with no root canal dressing demonstrated more intensive inflammatory infiltrate, thickness of periodontal ligament and cement and osseous reabsorption ($p < 0,05$) than group VII, that received a root canal dressing based on calcium hydroxide. In conclusion, the biomechanical preparation with different irrigating solutions didn't inactivate the endotoxin. The intracanal dressing based on calcium hydroxide was efficient, *in vivo*, in the inactivation of the deleterious effects of endotoxin.

Keywords: Endotoxins; Root canal irrigants; Calcium hydroxide; Intracanal medicament.