UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba

BEATRIZ MELARÉ DE OLIVEIRA

EFEITOS DA TERAPIA FOTODINÂMICA COM OS FOTOSSENSIBILIZADORES INDOCIANINA VERDE, CURCUMINA OU AZUL DE METILENO E DA MEDICAÇÃO INTRACANAL DE HIDRÓXIDO DE CÁLCIO, NA INTERFACE ADESIVA DE CIMENTAÇÃO DE PINOS DE FIBRA DE VIDRO

Araçatuba - SP
2024

BEATRIZ MELARÉ DE OLIVEIRA

EFEITOS DA TERAPIA FOTODINÂMICA COM OS FOTOSSENSIBILIZADORES INDOCIANINA VERDE, CURCUMINA OU AZUL DE METILENO E DA MEDICAÇÃO INTRACANAL DE HIDRÓXIDO DE CÁLCIO, NA INTERFACE ADESIVA DA CIMENTAÇÃO DE PINOS DE FIBRA DE VIDRO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia de Araçatuba, para obtenção do título de Cirurgiã(o)-Dentista.

Orientador(a): Prof. Assoc. Gustavo Sivieri de Araújo

Araçatuba - SP
2024

Dedicatória

Impossível passar por mais uma etapa sem agradecer a Deus por sempre ter me dado muita vida, saúde e sabedoria para enfrentar todos os desafios que apareceram e aparecem diariamente.

Difícil escrever esta dedicatória sem encher meus olhos de água, e me emocionar relembrando cada esforço que fiz(emos) para chegar até aqui.

Aos meus pais. Minha mãe, que por muitas vezes abdicou do que era dela, para que eu tivesse o meu. Que sempre fez questão de me apoiar, e me lembrar o quanto sou capaz. Por todas as vezes que você pegou 6 ou 7 horas de estrada para me visitar e passar um final de semana comigo, pelas vezes em que me via triste e sozinha em casa e me incentivava a sair com medo de que tivesse mais uma crise de depressão, essa vitória tem seu dedo. Meu pai, que também acreditou em mim e sempre fez o impossível para que eu estudasse. Pelas vezes em que você veio sozinho e de moto para Araçatuba, às vezes debaixo de chuva, pela linda carta escondida que me deixou em 2019 dizendo que eu sou o seu maior orgulho, e por ter acertado na quina da mega-sena (kkkkk), garantindo as listas de todos os materiais, você é parte desse sonho. Eu amo vocês.

À minha família, minha Vó Maria, que em 2018, aos 70 anos de idade, pegou seu Golzinho e veio passar 30 dias comigo até que eu me adaptasse aqui. À minha Tia Amélia, Padrinho, Ju, Lo, Tia Cris, Tio Edson, Édipo, Mayra, Douglas e Rafinha, por sempre me apoiarem e entenderem as ausências nas reuniões familiares.

Ao meu namorado, Pedro, que além de ser uma fonte lindíssima de inspiração, me ouve, aconselha, acalma, incentiva a ser minha melhor versão e faz absolutamente tudo por mim. Jamais vou me arrepender de ter feito dupla com você no crossfit. Obrigada por muitas vezes ser meu lar, e me aconchegar. Te amo sempre.

Aos meus amigos de Salto, que não mediram esforços para viajar até Araçatuba quando eu estava infeliz e só sabia chorar e pensar em coisas tristes. Aos meus amigos de Araçatuba, dividir todo esse processo com vocês fez toda a diferença. Tudo seria mais pesado se não fosse dividido com vocês. Sozinho, a gente não faz nada. Minha dupla de clínica e de vida, Fernanda, obrigada por aguentar meu

nervosismo antes de cada atendimento, por segurar as pontas quando eu chegava cansada e com medo, e por todo o apoio acreditando no meu potencial.

Aos meus professores de escola, que foram a base para quem me tornei hoje, especialmente ao Marcão. Você foi a primeira inspiração profissional que eu tive, uma pena não ter você presencialmente para comemorar mais esta conquista, mas você estaria muito orgulhoso, professor.

Aos meus dentistas de Salto, Dr. Renan e Dra Taísa Maestrello, pelo enorme incentivo quando escolhi a profissão. E ao amigo da família, Dr Sérgio, pelo estágio durante o período de pandemia.

E por fim, mas não menos importante, ao meu orientador, Prof. Gustavo, que fez aflorar meu amor pela endodontia desde a aula de Preparo Biomecânico que o senhor ministrou. Nunca desistiu da minha orientação e viu potencial em mim quando eu mesma não via. Ao meu grupo de pesquisa, Thalya, Lari e Mariana, por toda a parceria que temos, nada seria feito sem vocês.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa de pesquisa (processo 106265/2023-7).

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Chamada CNPq/MCTI/FNDCT Nº 18/2021 - Faixa A - Grupos Emergentes, apoio financeiro CNPq (processo 408327/2021-9).

Aos técnicos de laboratórios e funcionários do departamento que sempre foram muito solícitos.

“Só posso levantar as mãos pro céu, agradecer e ser fiel ao destino que Deus me deu”

Zeca Pagodinho

RESUMO

OLIVEIRA, B.M. **Efeitos da terapia fotodinâmica com os fotossensibilizadores indocianina verde, curcumina ou azul de metileno e da medicação intracanal de hidróxido de cálcio, na interface adesiva da cimentação de pinos de fibra de vidro.** 2024. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2024.

Este estudo *in vitro* buscou avaliar a influência da Terapia Fotodinâmica com os diferentes fotossensibilizadores Indocianina Verde (IV), Curcumina (CC) ou Azul de Metileno (AM) e da medicação intracanal de Hidróxido de Cálcio ($Ca(OH)_2$) na qualidade de cimentação de pinos de fibra de vidro (PFV) ao substrato radicular. Para isto, foram utilizados setenta e dois (72) incisivos bovinos que foram preparados biomecanicamente (PBM) e selados apicalmente com resina composta e distribuídos aleatoriamente em 8 grupos (n=9): G1: PBM + Água Deionizada (Controle Negativo); G2: PBM + Água Deionizada + $Ca(OH)_2$ (Controle Positivo); G3: PBM + FS-IV 50mg/L + Laser Infravermelho λ 808nm; G4: PBM + FS-IV 50mg/L + Laser Infravermelho λ 808nm + $Ca(OH)_2$; G5: PBM + FS-CC 500mg/L + Led Azul λ 480nm; G6: PBM + FS-CC 500mg/L + Led Azul λ 480nm + $Ca(OH)_2$; G7: PBM + FS-AM 50mg/L + Laser vermelho λ 660nm; G8: PBM + FS-AM 50mg/L + Laser vermelho λ 660nm + $Ca(OH)_2$. Após o período de 14 dias da ação da medicação intracanal, ela foi removida e os canais foram obturados e preparados para a cimentação dos PFV. A morfologia da interface adesiva entre o cimento resinoso e o tecido dentinário intrarradicular foi avaliada pela microscopia confocal de fluorescência (MCF) e para isso foram adicionados corantes ao cimento resinoso utilizado na cimentação de PFV e no interior do canal radicular tratado endodonticamente previamente à cimentação. O volume e presença de bolhas foram analisados pela microtomografia computadorizada (Micro-CT). Os dados obtidos neste estudo foram submetidos a testes estatísticos específicos. Na avaliação do volume e presença de fendas, houve diferença estatística no G3, apresentando maior número e volume de fendas ($p \leq 0,05$). Não houve diferença estatística significante na comparação de grupos e terços para os dados obtidos na MCF. A TFD realizada com o FS-IV 50mg/L, associada a medicação de Ca(OH)2 apresentou maior número e volume de fendas, entretanto não exerce efeito significativo em relação à morfologia da interface adesiva da dentina intrarradicular e o cimento resinoso utilizado na cimentação de PFV.

Palavras-chave: Tratamento do Canal Radicular, Terapia Fotodinâmica, Indocianina Verde, Curcumina, Hidróxido de cálcio, Microscopia de Fluorescência, Microtomografia por Raio-X.

ABSTRACT

OLIVEIRA B.M. **Effects of photodynamic therapy with the photosensitizers indocyanine green, curcumin, or methylene blue and intracanal medication with calcium hydroxide on the adhesive interface of fiberglass post cementation.** 2024. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2024.

This *in vitro* study aimed to evaluate the influence of photodynamic therapy (PDT) with different photosensitizers, Indocyanine Green (IG), Curcumin (CC), or Methylene Blue (MB), and intracanal medication with Calcium Hydroxide ($Ca(OH)_2$) on the quality of fiberglass post (FGP) cementation to the root substrate. Seventy-two (72) bovine incisors were biomechanically prepared (BMP) and apically sealed with composite resin, then randomly distributed into 8 groups (n=9): G1: BMP + Deionized Water (Negative Control); G2: BMP + Deionized Water + $Ca(OH)_2$ (Positive Control); G3: BMP + FS-IG 50mg/L + Infrared Laser λ 808nm; G4: BMP + FS-IG 50mg/L + Infrared Laser λ 808nm + $Ca(OH)_2$; G5: BMP + FS-CC 500mg/L + Blue LED λ 480nm; G6: BMP + FS-CC 500mg/L + Blue LED λ 480nm + $Ca(OH)_2$; G7: BMP + FS-MB 50mg/L + Red laser λ 660nm; G8: BMP + FS-MB 50mg/L + Red laser λ 660nm + $Ca(OH)_2$. After 14 days of intracanal medication action, it was removed, and the canals were filled and prepared for FGP cementation. The morphology of the adhesive interface between the resin cement and the intraradicular dentin tissue was evaluated by confocal fluorescence microscopy (CFM) and for this purpose dyes were added to the resin cement used in FGP cementation and inside the endodontically treated root canal prior to cementation. The volume and presence of bubbles were analyzed by microcomputed tomography (Micro-CT). The data obtained in this study were subjected to specific statistical tests. When evaluating the volume and presence of cracks, there was a statistically significant difference in G3, with a greater number and volume of cracks ($p \leq 0.05$). There was no statistically significant difference when comparing groups and thirds for the data obtained in the CFM. PDT performed with FS-IG 50mg/L, associated with $Ca(OH)_2$ medication, showed a greater number and volume of cracks, however, it did not have a significant effect in relation to the morphology of the intraradicular dentin adhesive interface and the resin cement used in the cementation of FGP.

Keywords: Root Canal Treatment, Photodynamic Therapy, Green Indocyanine, Curcumin, Calcium Hydroxide, Microscopy Fluorescence, X-Ray Microtomography.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Secção transversal separando coroa anatômica e raiz 19

Figura 2 – Preparo biomecânico das amostras até a lima K#80 no CRT 24

Figura 3 – EDTA 30

Figura 4 – Condicionamento do ápice radicular com ácido fosfórico 37% 31

Figura 5 – Aplicação de sistema adesivo e ápices selados com resina composta fotopolimerizável 32

Figura 6 – FS Indocianina verde e fotoativação do fotossensibilizador com Laser Infravermelho 34

Figura 7 – Inserção do FS Curcumina no canal radicular e fotoativação do FS com Led Azul 6

Figura 8 – Inserção do FS Azul de Metileno e fotoativação do fotossensibilizador com Laser Vermelho

Figura 9 – Medicação intracanal no canal radicular e radiografia comprovatória

Figura 10 – Preparo das amostras para cimentação dos pinos de fibra de vidro

Figura 11 – Obtenção dos slices em cortadeira

Figura 12 – Micrografias confocal de varredura a laser do selamento da interface adesiva conforme os grupos experimentais e terços intrarradiculares.

Figura 13 – Imagens da Microtomografia Computadorizada

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Escores da interface adesiva de cimentação de acordo com os grupos e terços 19

Tabela 2 – Valores médios ± desvio padrão da quantificação do gap e volume (MM3) da formação de vazios no cimento resinoso em função dos grupos experimentais e terços intrarradiculares 24

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Distribuição dos grupos e procedimentos realizados 31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SCR	Sistemas de Canais Radiculares
PBM	Preparo Biomecânico
TFD	Terapia Fotodinâmica
Ca(OH)2	Hidróxido de Cálcio
LED	Diodo Emissor de Luz
FS	Fotossensibilizador
MO	Micro-organismos
IV	Indocianina Verde
CC	Curcumina
AM	Azul de Metileno
HC	Hidróxido de Cálcio
Micro-CT	Microtomografia Computadorizada
MCF	Microscopia Confocal de Fluorescência

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 15

2. OBJETIVOS 19

2.1. OBJETIVOS GERAIS 19

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 19

3. MATERIAL E MÉTODOS 20

3.1. COMITÊ DE ÉTICA E SELEÇÃO DOS DENTES 20

3.2. PREPARO DO CANAL RADICULAR E SELAMENTO APICAL 20

3.3. DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS 23

3.4. TERAPIA FOTODINÂMICA 23

3.5. MEDICAÇÃO DE HIDRÓXIDO DE CÁLCIO E SELAMENTO CORONÁRIO 26

3.6. OBTURAÇÃO DOS CANAIS RADICULARES 27

3.8. ANÁLISE DA QUALIDADE DA INTERFACE ADESIVA 28

3.8.1. Análise em Microscopia Confocal de Fluorescência (MCF) 28

3.8.2. Análise em Microtomografia Computadorizada (Micro-CT) 30

4. FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS 32

5. RESULTADOS 33

5.1. MICROSCOPIA CONFOCAL DE FLUORESCÊNCIA 33

5.2. MICROTOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA 37

6. DISCUSSÃO 42

7. CONCLUSÃO 46

ANEXOS 13

1. INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico em dentes com diagnóstico de necrose pulpar visa a eficaz desinfecção do sistema de canais radiculares (SCR) por meio de diferentes estratégias terapêuticas como o preparo biomecânico (PBM), a utilização de soluções irrigadoras como o hipoclorito de sódio a 2,5% (1–3) e o uso de medicação intracanal de hidróxido de cálcio ($Ca(OH)_2$) (4–7), promovendo então uma diminuição da quantidade de micro-organismos (MO) no interior dos canais bem como a redução de seus produtos tóxicos.

Contudo, devido à complexidade dos SCR, como a presença de deltas apicais, istmos, canais em C, canais secundários, estudos apontam que somente o PBM junto à medicação intracanal de hidróxido de cálcio e às soluções irrigadoras não são suficientes para promover desinfecção eficaz dos SCR (8,9). Estudos apontam, inclusive, a dificuldade em promover tal descontaminação até em canais principais, visto a ampla variedade anatômica que estes podem apresentar. (10)

Atualmente, tem-se notado grande enfoque na utilização de aparelhos de Laser e LED voltado à área da saúde (11,12), e na odontologia a terapia fotodinâmica (TFD) ganha espaço como uma maneira alternativa de tratamento de doenças infecciosas (13). Tal terapia se baseia na utilização de um fotossensibilizador exógeno (FS) que quando ativado por uma fonte de luz de comprimento de onda específico, tem por objetivo promover a destruição seletiva de um sítio específico (célula-alvo) (14–16).

O mecanismo de ação desta terapia consiste na inserção do fotossensibilizador no interior do canal radicular, seguido da fotoativação com uma fonte de luz que irradia no FS fazendo com que ele absorva fótons da luz irradiada e passe do estado normal para o mais estimulado. Na presença de oxigênio, o FS transfere energia ao substrato dentinário, e ao retornar ao seu estado normal, tem-se a formação de espécies altamente reativas e de vida curta, o oxigênio singleto. Esta molécula de oxigênio é capaz de promover oxidação de lipídios, aminoácidos e proteínas, que levam à injurias como necrose, apoptose e lise das membranas celulares dos microrganismos. Há

destruição de células-alvo por estresse oxidativo nas membranas celulares dos MO (13-23).

A TFD quando utilizada na Endodontia pode ser aplicada após a realização do PBM e antes do emprego da medicação intracanal de Hidróxido de Cálcio, com o intuito de potencializar a descontaminação do SCR. Estudos comprovaram que a TFD aumenta a desinfecção do sistema de canais radiculares e quando associada à medicação intracanal de $Ca(OH)_2$ possui efeitos promissores, inclusive nas propriedades mecânicas relacionadas à cimentação de pinos de fibra de vidro (24-28).

Dos FS encontrados comercialmente na atualidade, pode-se destacar o azul de metileno (AM) (cloreto de metiltionínio), um composto químico, com ação desinfetante e antisséptica, utilizado como corante ou indicador nas reações de oxirredução (29). O AM possui características fotossensibilizadoras, sendo utilizado na TFD por possuir uma banda de absorção na faixa de 500nm a 700nm, sendo ativado pela luz vermelha (30, 31).

A indocianina verde (IV) é um corante aniônico de tricarbocianina, solúvel em água, e que pode ser utilizado como FS com quase nenhuma toxicidade. A IV é um FS com absorção entre 800nm e 810nm, sendo ativada por ondas no espectro infravermelho e mínima interferência de dispersão (23, 32, 33). Contudo, poucos estudos do FS-IV na Endodontia são encontrados, (23, 34-38) e que demonstram sua eficácia na descontaminação dos SCR.

Quando se detecta o insucesso no tratamento endodôntico, uma das principais causas é a persistência de MO resistentes no interior dos canais e tecidos perirradiculares. O principal MO encontrado nestas condições é o *Enterococcus faecalis* (23, 39-41), e em diversos estudos tem se descoberto que este MO é persistente ao processo de irrigação, seja ele com hipoclorito de sódio, clorexidina e até mesmo Hidróxido de Cálcio. Durante o PBM e a irrigação do SCR esses MO não são totalmente eliminados devido à sua alta resistência, e é possível que permaneçam viáveis e se proliferando em ambientes com baixo pH e altas temperaturas por um longo período. Para isso, há formação de biofilme com uma matriz polimérica extracelular, que atua como proteção contra agentes antibacterianos (39-42), portanto, mostra-se necessário que seja desenvolvido novos métodos cada vez mais eficazes para potencializar a

descontaminação dos SCR e melhorar os resultados do tratamento de infecções endodônticas (38, 43, 44).

A literatura apresenta ainda poucos estudos sobre a análise microbiológica da aplicação do FS-IV na endodontia, entretanto, os poucos resultados te, demonstrado que este FS é eficaz como agente antimicrobiano, mostrando resultados promissores na descontaminação do SCR e eliminação de bactérias como *Enterococcus faecalis* (37-38, 45) e *Porphyromonas gengivalis* (34, 37). Mirzaie et al. (2016), comprovaram a eficácia do FS-IV, aplicando o mesmo após a remoção do tecido cariado e do preparo cavitário convencional (46).

São escassos na literatura trabalhos a respeito da aplicação do FS-IV na endodontia (35-38, 45), os poucos encontrados somente avaliaram a eficácia antimicrobiana de tal FS, por isso, não se encontram estudos que avaliam sua influência nas propriedades mecânicas da dentina intrarradicular e do cimento resinoso. Sendo assim, mostra-se necessário que estas propriedades sejam avaliadas.

A microscopia confocal de fluorescência (MCF) também pode ser utilizada para avaliar a qualidade da morfologia da interface entre a dentina intrarradicular e o cimento resinoso utilizado na cimentação de PFV, por meio da formação de *tags*. Para isto, serão empregados corantes fluorescentes em proporções ideais ao cimento resinoso, os quais não interferem nas propriedades do material resinoso (54, 55).

A Microtomografia Computadorizada (micro-CT) permite que seja avaliado o volume de cimento resinoso bem como a presença e quantificação de bolhas neste material, gerando uma imagem tridimensional. O método realizado pela micro-CT é considerado uma técnica não invasiva e reprodutível, que permite a aquisição de dados quantitativos e qualitativos, sem que ocorra destruição das amostras. Esta tecnologia é considerada ideal para quantificar o volume do material preenchedor sem comprometimento das amostras (56).

O emprego da TFD, neste estudo, será após o PBM dos canais, e antes da introdução da medicação intracanal de Hidróxido de Cálcio. O objetivo será obter respostas sobre o atual questionamento sobre a influência da TFD com os

diferentes FSs, e da medicação intracanal na dentina intrarradicular, previamente à cimentação de PFV utilizando cimento resinoso, se há alteração ou interferência destas modalidades na morfologia da interface adesiva na dentina dos diferentes terços radiculares correspondentes à cimentação dos PFV.

No presente momento há questionamentos que necessitam ser bem elucidados e carecem de evidências científicas para o emprego da TFD na Endodontia empregando os FS-IV, FS-CC ou FS-AM, tornando conveniente a realização deste Projeto de Pesquisa.

Estes achados poderão levar ao emprego de uma modalidade terapêutica embasada cientificamente que serão especificamente direcionadas e aplicadas a terapias a fim de potencializar a desinfecção endodôntica.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos Gerais

O objetivo deste projeto de pesquisa foi avaliar o efeito da terapia fotodinâmica com os diferentes fotossensibilizadores indocianina verde, curcumina ou azul de metileno, e o uso da medicação intracanal de hidróxido de cálcio na morfologia da interface adesiva entre a dentina intrarradicular e o cimento resinoso utilizado na cimentação de pinos de fibra de vidro.

2.2. Objetivos Específicos

Este estudo avaliou o efeito da terapia fotodinâmica com o uso dos fotossensibilizadores indocianina verde, curcumina ou azul de metileno e da medicação intracanal de hidróxido de cálcio na vedação da interface adesiva entre o cimento resinoso e o tecido dentinário intrarradicular por meio da Microscopia Confocal de Fluorescência (MCF), bem como, analisar o volume e presença de bolhas neste cimento por meio da Microtomografia Computadorizada (Micro-CT).

As hipóteses nulas testadas foram:

a) A TFD com os respectivos fotossensibilizadores não alteraria a qualidade da interface adesiva entre a dentina intrarradicular e o cimento resinoso utilizado na cimentação dos PFV;
b) A utilização da medicação intracanal de hidróxido de cálcio associado à TFD não modificaria a qualidade da interface adesiva entre o cimento resinoso e o tecido dentinário intrarradicular dos diferentes terços radiculares;

   Os diferentes terços radiculares não influenciariam na análise da qualidade da interface adesiva entre o cimento resinoso e o tecido dentinário.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Comitê de Ética e Seleção dos Dentes

Este projeto de pesquisa foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, Processo Nº 0418/2022. (ANEXO A).

Foram utilizados 72 incisivos bovinos recém extraídos, e doados para fins de pesquisa (Frigorífico JBS S.A, Andradina, SP, Brasil). Os dentes passaram por avaliação com lupa de 0,75 de diâmetro e 3,5X de aumento (Bio-Art Equipamentos Odontológicos Ltda., São Carlos, SP, Brasil) e iluminação adequada a fim de que se observasse ausência de micro trincas e/ou fraturas advindas da extração. Também foram radiografados com Raio-X Digital – Software Dental Master Dicom versão 1.0.9.1, e sensor digital Micro Imagem EVO ((Micro Imagem, Indaiatuba, SP, Brasil) para auxiliar na confirmação da integridade da estrutura dentária (57).

Os dentes que apresentaram algum tipo de deformidade, curvatura apical, micro trincas e/ou fraturas foram descartados e substituídos, e foram armazenados em congelador na temperatura de -20ºC até que o projeto de pesquisa se iniciasse (58).

3.2. Preparo do Canal Radicular e Selamento Apical

Foi removida a coroa anatômica de todos os incisivos bovinos por meio de uma secção transversal utilizando-se disco de diamante em cortadeira de precisão Isomet 1000 (Buheler, Lake Bluff, USA) sob refrigeração e em baixa velocidade, para que as raízes ficassem padronizadas em comprimento de 20mm (52, 53, 57-59) (Figura 1). O comprimento real do dente (CRD) foi estabelecido com um instrumento tipo K #20 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça) posicionado no canal radicular até a abertura foraminal, obtendo-se os 20mm. O comprimento real de trabalho (CRT) foi determinado 1mm aquém do CRD, portando, 19mm. O PBM foi realizado com lima inicial tipo K #50 no CRT, e o batente apical foi confeccionado com lima tipo K #80 no CRT (Figura 2). A

irrigação foi feita com 2ml de hipoclorito de sódio a 2,5% (Apothicário – Farmácia de Manipulação, Araçatuba, SP, Brasil) a cada troca de lima, até a lima K #80 em todos os dentes. Após o término do PBM, foi inserido EDTA 17% (Biodinâmica Química e Farmacêutica Ltda., Ibiporã, PR, Brasil) no interior dos canais radiculares onde permaneceu por 3 minutos em repouso para remoção da camada de *smear layer* (Figura 3). Posteriormente, foi removido o EDTA com solução de hipoclorito de sódio a 2,5%, e os canais radiculares foram aspirados e secos com pontas de papel absorvente #80 (Dentsply, Maillefer, Petrópolis, RJ, Brasil) (52, 53, 57-59).

Com o intuito de se evitar o extravasamento de FS pelo forame apical durante a TFD e para promover melhor obturação dos canais radiculares, foi feito o selamento apical de cada dente nos últimos 2mm apicais (52, 53, 57-59), por meio de condicionamento com ácido fosfórico 37% (FGM, Joinville, SC, Brasil), aplicação do sistema adesivo Adper Single Bond 2 (3M ESPE, St Paul, MN, EUA) e resina composta fotopolimerizável Filtek Z250 XT (3M ESPE, St Paul, MN, USA) (52, 53, 57-59) (Figuras 4 e 5).



Figura 1. Secção transversal separando coroa anatômica e raiz

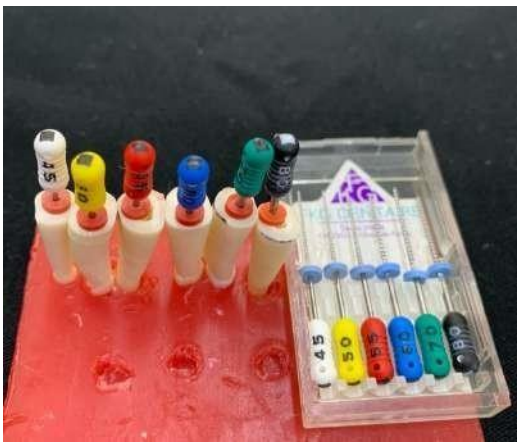


Figura 2. Preparo biomecânico das amostras até a lima K#80 no CRT



Figura 3. EDTA

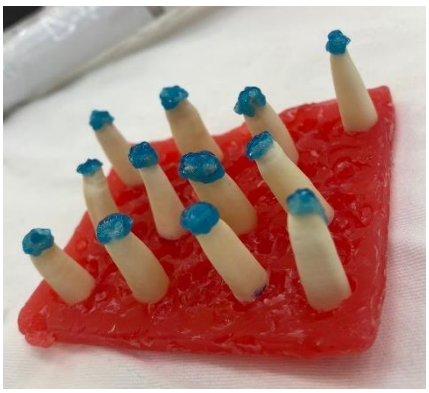


Figura 4. Condicionamento do ápice radicular com ácido fosfórico 37%

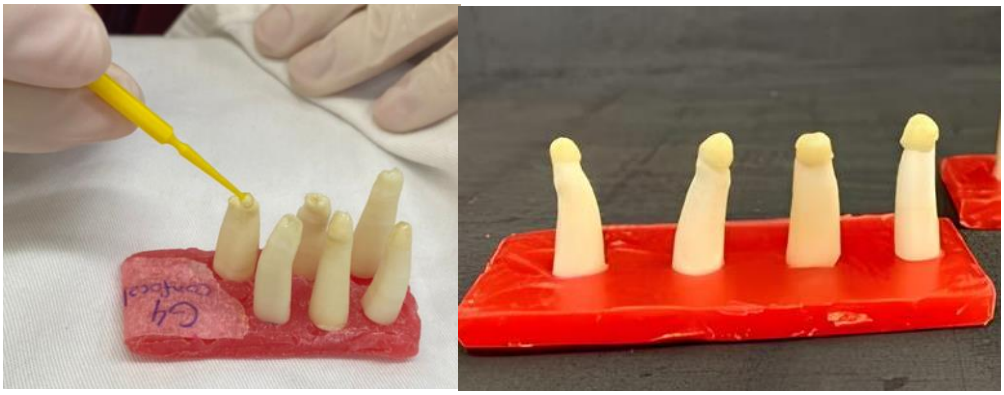


Figura 5. Aplicação de sistema adesivo e ápices selados com resina composta fotopolimerizável

3.3. Distribuição dos Grupos

Então, os 72 dentes foram distribuídos aleatoriamente em 8 grupos experimentais (n=9), conforme mostrado no Quadro 1.

Quadro 1. Distribuição dos grupos e procedimentos realizados.

Grupos Experimentais	Procedimentos a serem realizados
G1	PBM + Água Deionizada (Controle Negativo)
G2	PBM + Água Deionizada + $Ca(OH)_2$ (Controle Positivo)
G3	PBM + FS IV 50mg/L + Laser infravermelho λ 808nm (TFD)
G4	PBM + FS-IV 50mg/L + Laser infravermelho λ 808nm (TFD) + $Ca(OH)_2$
G5	PBM + FS-CC 500mg/L + Led Azul λ 480nm (TFD)
G6	PBM + FS-CC 500mg/L + Led Azul λ 480nm + $Ca(OH)_2$
G7	PBM + FS-AM 50mg/L + Laser vermelho λ 660nm (TFD)
G8	PBM + FS-AM 50mg/L + Laser vermelho λ 660nm (TFD) + $Ca(OH)_2$

3.4. Terapia Fotodinâmica

Os G1 e G2 (controle negativo e positivo, respectivamente) não receberam nenhum dos FS e, consequentemente, não foram submetidos à TFD.

No G1, após o PBM, os canais radiculares foram preenchidos somente com água deionizada, enquanto o G2, após o PBM, e a irrigação com água deionizada, foi inserida a medicação intracanal com pasta de $Ca(OH)_2$ por 14 dias.

Os FS-IV, FS-CC e FS-AM foram cobertos com papel alumínio em suas embalagens para evitar a exposição à luz antes do experimento, a fim de se eliminar qualquer interferência. (52, 53, 57-59). Durante a realização da TFD, a iluminação ambiente também estava controlada e reduzida para evitar possível degradação dos FSs e alteração nos resultados (53).

Nos grupos G3 e G4, foi realizada a TFD com o FS-IV 50mg/L (Ophthalmos S/A, São Paulo, SP, Brasil). O FS foi inserido no interior dos canais radiculares e ali permaneceu por 60 segundos (período de pré-irradiação), apenas sob agitação cuidadosa utilizando uma ponta ultrassônica Irrisonic E1 (Helse Dental Technology, Santa Rosa de Viterbo, SP, Brasil) conectada ao ultrassom (NEWTRON P5 XS, Satelec Acteon, Mérignac, França), na escala de potência 2 (45, 38, 39). Passados os 60 segundos, a fotoativação foi feita com Laser infravermelho com comprimento de onda de 808nm (MMOptics, São Carlos, SP, Brasil) utilizando-se uma fibra óptica flexível e descartável de 300µm de diâmetro (38). Somente o G4 recebeu a medicação intracanal com $Ca(OH)_2$ após a TFD (Figura 6).



Figura 6. FS Indocianina verde e fotoativação do fotossensibilizador com Laser Infravermelho

Os grupos G5 e G6 foram submetidos à TFD com o FS-CC 500mg/L. Os canais radiculares dos respectivos grupos foram preenchidos com o FS e o mesmo permanceceu por 300 segundos sob o período de pré-irradiação, sendo 60 segundos deste tempo sob agitação cuidadosa com ponta ultrassônica

Irrisonic E1 conectada ao ultrassom na escala de potência 2 (59). Então, o FS-CC 500mg/L foi fotoativado por 240 segundos (38) por Led azul com comprimento de onda de 480nm (Radii Cal, SDI, Victória, VIC, Austrália) com o auxílio de uma fibra óptica flexível descartável de diâmetro de 300µm (MMOptics, São Carlos, SP, Brasil). A seguir, apenas o G6 recebeu a medicação intracanal de $Ca(OH)_2$ (Figura 7).

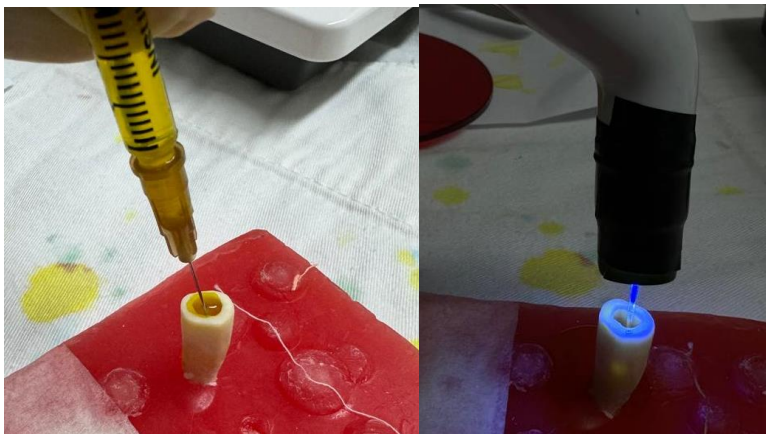


Figura 7. Inserção do FS Curcumina no canal radicular e fotoativação do FS com Led Azul

Os grupos G7 e G8 foram preenchidos com o FS-AM 50mg/L e passaram pelo período de pré-irradiação por 180 segundos, sendo 60 segundos deste tempo sob agitação com ponta ultrassônica Irrisonic E1 conectada ao ultrassom na escala de potência 2. Então o FS-AM 50mg/L foi fotoativado por Laser Vermelho com comprimento de onda de 660nm (Therapy X, DMC Equipamentos, São Carlos, SP, Brasil) pelo tempo de 60 segundos. Somente o G8 recebeu a medicação intracanal com $Ca(OH)_2$ após a TFD (Figura 8).

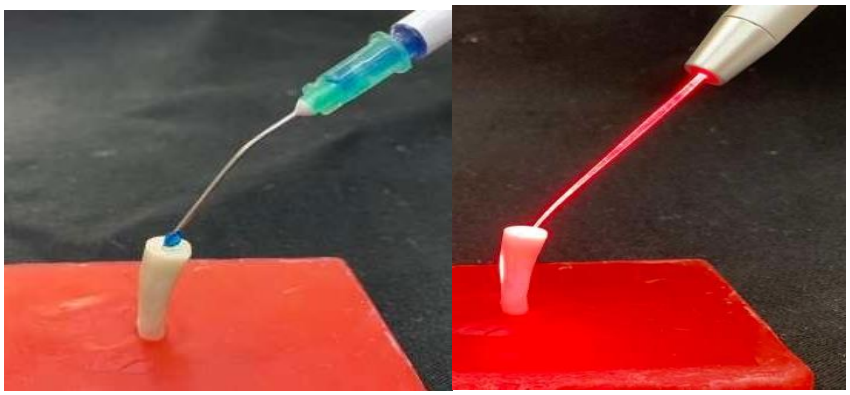


Figura 8. Inserção do FS Azul de Metileno e fotoativação do fotossensibilizador com Laser Vermelho

Em todos os grupos que foram submetidos à TFD (G3, G4, G5, G6, G7 e G8) houve cuidado redobrado para minimizar o contato da ponta ultrassônica com as paredes dos canais radiculares durante a agitação delicada com inserto ultrassônico por 60 segundos (52, 53, 57-59). A fotoativação dos respectivos FSs foi feita sem refrigeração, a 2mm aquém do CRT, e realizando-se movimentos helicoidais com a fibra óptica na direção apica-cervical 10 vezes por minuto (47, 50-52, 56), também sob cuidado para evitar contato da fibra óptica com as paredes dos canais radiculares. Após a TFD, foi realizada a irrigação final dos grupos (G3, G4, G5, G6, G7 e G8) com 10ml de água deionizada para remoção dos respectivos FSs, e secagem dos canais com cânulas de aspiração e pontas de papel absorvente #80.

3.5. Medicação de Hidróxido de Cálcio e Selamento Coronário

Os grupos G1, G3, G5 e G7, que não receberam medicação intracanal com $Ca(OH)_2$, permaneceram vazios até que fosse feita a obturação dos canais (5).

No grupo G2 (Controle Positivo), em que não foi realizada a TFD, a medicação foi inserida no interior dos canais após o PBM e irrigação com água deionizada. Nos grupos G4, G6 e G8, a medicação intracanal foi inserida no interior dos canais radiculares após o PBM e TFD. A medicação de hidróxido de cálcio (Biodinâmica Química e Farmacêutica, Ibiporã-PR, Brasil) foi acrescida ao iodofórmio (Biodinâmica Química e Farmacêutica, Ibiporã-PR, Brasil) e levada por meio da espiral de Lentulo #4 (Maillefer-Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil) ao interior dos canais (Figura 9). Os dentes foram radiografados para comprovação de correta inserção de medicação intracanal.

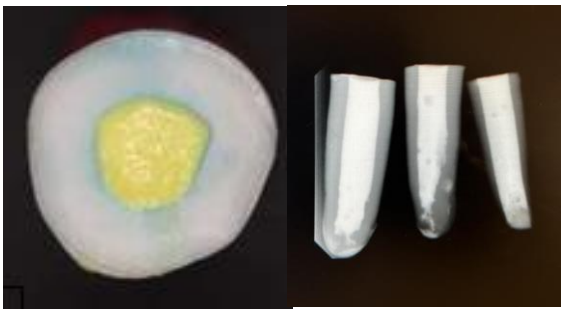


Figura 9. Medicação intracanal no canal radicular e radiografia comprovatória

Posteriormente à medicação, os dentes foram selados com selamento duplo de cimento Cimpat Branco (Septodont do Brasil Importada Ltda., Barueri, SP, Brasil) e cimento de ionômero de vidro Maxxion R (FGM, Joinville, SC, Brasil), e armazenados em 100% de umidade a 37ºC. Após o período de 14 dias, foram removidos o selamento coronário e a medicação intracanal de $Ca(OH)_2$, com irrigação de hipoclorito de sódio à 2,5% e auxílio de uma lima K #80 no CRT (1, 4, 5, 61).

3.6. Obturação dos Canais Radiculares

Os canais radiculares de todos os grupos foram obturados com cones de guta-percha principal #80, cones de guta-percha auxiliares F e MF (Tanariman Indústria Ltda., Manacapuru, AM, Brasil) e cimento obturador MTA fillapex (Angelus, Londrina, PR, Brasil), adaptados ao CRT, pela técnica de obturação Hibrida de *Tagger* com compactador *McSpadden* #90 (Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil).

O acesso coronário foi selado pelo selamento duplo com Cimpat Branco (Septodont do Brasil Importadora Ltda., Barueri, SP, Brasil) e cimento de ionômero de vidro Maxxion R (FGM, Joinville, SC, Brasil). Da mesma forma, todos os dentes foram armazenados em 100% de umidade, a 37ºC, pelo período de 7 dias (52, 53, 57-59).

3.7. Preparo e Cimentação dos Pinos de Fibra de Vidro

O preparo intrarradicular dos dentes foi realizado em todos os grupos com uma broca largo nº1 (Dentsply Sirona, Pirassununga, SP, Brasil) calibrada em 9mm e em baixa velocidade, para remoção da guta-percha e confecção de espaço para cimentação dos pinos na cavidade pulpar, tendo como referência o CRT. Para a padronização do canal radicular e adaptação do pino, foi usada a broca correspondente ao pino nº2 (FGM, Joinville, SC, Brasil) (52, 53, 57-59) (Figura 10).



Figura 10. Preparo das amostras para cimentação dos pinos de fibra de vidro

Para retenção intrarradicular foram utilizados pinos de fibra de vidro *White Post* DCE nº2 (FGM, Joinville, SC, Brasil), que foram limpos e condicionados com ácido fosfórico a 37% por 60 segundos, lavados com água corrente e secos com jatos de ar. Então, foi aplicado o Silano RelyX Ceramic Primer (3M ESPE, St Paul, MN, USA) com um *microbrush* (KG SORENSEN, Cotia, SP, Brasil), e jatos de ar para volatilização do solvente do silano.

Os canais radiculares foram irrigados com soro fisiológico 0,9% (FARMACE, Barbelha, CE, Brasil), aspirados com cânulas endodônticas e secos com pontas de papel absorvente #80. Os pinos serão cimentados utilizando-se o cimento resinoso RelyX^{TM} U200 (3M ESPE, St Paul, MN, USA) pela técnica de ativação dual de acordo com as instruções do fabricante.

3.8. Análise da Qualidade da Interface Adesiva

3.8.1. Análise em Microscopia Confocal de Fluorescência (MCF)

Foram selecionadas 24 amostras, distribuídas em 8 grupos experimentais (n=3). E, para que as estruturas fossem visualizadas em microscopia confocal, foi necessário a adição de corante fluorescente Rodamina B (FDA, Sigma Chemical Co, San Luis, MI, USA) ao cimento resinoso, na proporção de 0,16mg/g previamente ao processo de cimentação dos pinos de fibra de vidro (53, 65). Após a remoção da medicação intracanal com $Ca(OH)_2$ e secagem dos canais com cones de papel absorvente #80, foi adicionado ao canais uma solução de água destilada acrescida de outro corante, Fluoresceína 0,1% (FDA, Sigma Chemical Co, San Luis, MI, USA) e que permaneceu no interior dos canais por 4 horas, antes do processo de cimentação dos pinos de fibra de vidro. Para

remoção da solução e secagem dos canais foi utilizado 10ml de água deionizada, e cones de papel absorvente. Posteriormente foi realizada a cimentação dos pinos de fibra de vidro conforme protocolo relatado.

Passados 7 dias desde a cimentação, para que ocorresse máxima polimerização do cimento resinoso, as amostras foram seccionadas transversalmente ao longo eixo do dente com um disco diamantado em cortadeira de precisão Isomet 1000 (Buheler Ltd., Lake Bluff, Ill, EUA) a fim de se obter *slices* de 1,3mm dos diferentes terços radiculares (cervical, médio e apical) referentes à área da dentina intrarridacular onde foi feita a união dos pinos de fibra de vidro (Figura 11).

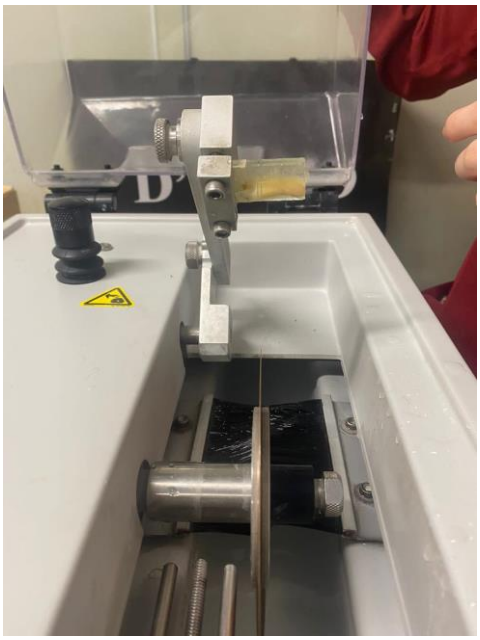


Figura 11. Obtenção dos *slices* em cortadeira

Em seguida, os *slices* de cada amostra foram levados e examinados em microscópio confocal de fluorescência (Leica TCS SP2, Leica, Mannheim, Alemanha). Foi utilizado um laser de gás misto (Argônio em 488nm e He-Ne em 453nm) como fonte de luz, e as imagens geradas foram registradas no modo fluorescente. Estas então, foram analisadas em lente objetiva imersa em óleo (40x, abertura de 1,25). Uma área representativa de cada *slice* foi escaneada em 11 secções de 2µm cada, e a imagem obtida por meio da média das 11 secções foi analisada por dois avaliadores previamente calibrados. A avaliação foi pelo método duplo-cego. Em caso de divergência, nova avaliação foi realizada até obtenção de um consenso final (53).

Os seguintes critérios foram avaliados:

a) Qualidade da interface adesiva dentina/cimento (53, 65):

Escore 0 - ausência de fendas, interface adesiva nítida, contínua;

Escore 1 - presença parcial de fendas, interface adesiva parcialmente contínua, presente em menos do que 50% da interface;

Escore 2 - presença de fendas com interface descontínua, presente em aproximadamente mais do que 50% da interface.

b) Formação de *tags* na dentina intraradicular (53, 65):

Escore 0 - não detectável;

Escore 1- poucos *tags* visíveis;

Escore 2- formação uniforme de *tags* com poucas ramificações laterais;

Escore 3- formação de longos t*ags* com muitas ramificações laterais.

c) Profundidade de penetração dos *tags* (66):

Escore 0 - sem *tags*;

Escore 1 - *tags* ≤ 3μm em média;

Escore 2 - *tags* = 3 a 8,9 μm em média;

Escore 3 - *tags* = 9 a 15 μm em média;

Escore 4 - *tags* ≥ 15 μm em média.

3.8.2. Análise em Microtomografia Computadorizada (Micro-CT)

Para análise da integridade da interface adesiva, do volume e a presença de bolhas na interface de cimentação, foram utilizadas 48 amostras, distribuídas em 8 grupos experimentais já citados anteriormente (n=6), que foram analisadas em um microtomoógrafo de alta resolução (SkyScan 1272, Bruker, Kontich, Bélgica) (67, 68).

O microtomógrafo foi calibrado utilizando a função padrão "*phanton"*, e operado em condições de energia de 80 quilovolts e 125 miliamperes. As imagens geradas estavam na resolução média (13µm/fatia) e em 180º. Os espécimes foram rotacionados a passos angulares de 0,4º com tempo de exposição de 3000 milissegundos. Também foram empregados um tubo de 16,5 mm e filtro de alumínio de 1 mm de espessura para obtenção destas imagens. (68).

Os espécimes foram escaneados e os dados obtidos transformados em arquivos DICOM e posteriormente renderizados em modelos tridimensionais (SolidWorks Corp., MA, EUA). Primeiramente as imagens foram reconstruídas em 3D com o software *NRecon* (SkyScan, Kontich, Bélgica), indo da porção cervical até o ápice das raízes com os parâmetros *"Smothing"* (6), *"Misalignment"* (-3, 5), *"Ring artifacts reduction"* (6), *"Beam-hardening correction"* (34%) e *"Change dynamic image range"* (0.003169-0.230010) iguais para todas as amostras. A seguir, por meio do software DataViwer (SkyScan, Kontich, Belgica), foi possível a visualização e análise linear das imagens nos eixos coronal, sagital e transaxial, bem como a determinação de uma posição padrão para as análises de volume e quantificação de vazios (67).

A quantificação de bolhas e fendas na camada de cimento foram determinadas pelo software CTAnalyser (SkyScan, Kontich, Bélgica) com as imagens na posição transaxial. Inicialmente foi determinada uma área a ser analisada com a seleção em média de 1013 a 1200 fatias, seguida da segmentação da imagem a fim de se obter a separação do objeto desejado dos outros objetos presentes na imagem. Para isto, foi desenhado um *template* (área de interesse) à mão livre, delimitando apenas a camada de cimento. Na sequência, as imagens foram binarizadas, e o volume de bolhas e fendas presentes no canal radicular calculado (68). Então, com o software CTVOX (SkyScan, Kontich, Bélgica), foi realizada a renderização destas imagens em modelos tridimensionais para avaliação da integridade da interface adesiva pela observação de áreas de cimento que estavam em descontinuidade com as paredes do canal radicular.

4. FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS

A análise estatística de concordância interexaminadores foi realizada pelo teste Kappa, e os dados provenientes da análise em Microscopia Confocal de Fluorescência, por se tratar de escores, não foram submetidos ao teste de normalidade, apenas ao teste de Kruskal-Wallis, seguidos posteriormente pelo teste post-hoc de Dunn (α=0,05) (SigmaPlot 12.0).

Os dados obtidos pela Microtomografia Computadorizada foram submetidos a testes de normalidade Shapiro-Wilk (Programa Bioestat 2.0) e homogeneidade Bartlett (Programa Bioestat 2.0). Esses dados foram então analisados utilizando análise de variância de medidas repetidas ANOVA (SigmaPlot 12.0). E o teste post-hoc foi realizado pelo teste de Tukey, que foi protegido contra o mínimo diferenças significativas (α=0,05) (SigmaPlot 12.0).

5. RESULTADOS

5.1. Microscopia Confocal de Fluorescência

As pontuações e micrografias a respeito da interface adesiva obtidas através MCF são apresentadas na Tabela 1 e Figura 12, respectivamente. Foi realizado teste de concordância interexaminadores, resultando em valores de 0,78, 0,84 e 0,80 para os parâmetros de qualidade da interface, formação de tags e profundidade de penetração de *tags*,respectivamente. Não foram identificadas diferenças significativas na comparação dos grupos experimentais ou terços intrarradiculares para qualquer um dos critérios analisados (p>0,05) (Tabela 1). Observando a qualidade da interface adesiva, foi observada prevalência do escore 0 em todos os grupos, exceto para os grupos G6, G7 e $G8_2$, que apresentaram maior prevalência do escore 1.

Quanto à formação de *tags* na dentina, prevaleceram os escores 1 e 2. Quanto à profundidade das *tags* penetração, houve predomínio do escore 2 em todos os grupos experimentais, exceto no grupo G6, onde prevaleceu o escore 1.

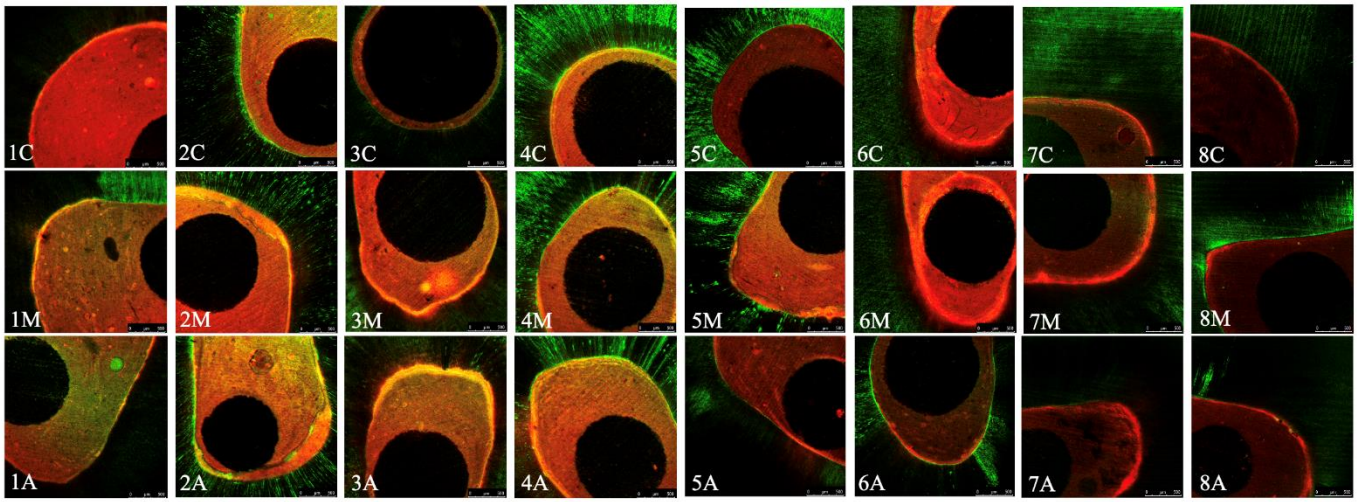


Figura 12: Micrografias confocal de varredura a laser representativas do selamento da interface adesiva conforme os grupos experimentais e terços intrarradiculares sob ampliação original × 5. **1C, 1M, 1A** - Fatias cervicais, médias e apicais de dentina intrarradicular irrigadas com solução de água deionizada (CN). **2C, 2M, 2A** - Cortes cervicais, médios e apicais de dentina intrarradicular irrigada com água deionizada e preenchida com medicação intracanal de $Ca(OH)_2$ (CP). **3C, 3M, 3A** - Cortes cervical, médio e apical da dentina intrarradicular após TFD com FS IV ativado com Laser

infravermelho (λ 808 nm) (IV). Figuras **4C, 4M, 4A** - Secções cervicais, médias e apicais da dentina intrarradicular após TFD com FS IV ativado com Laser infravermelho (λ 808 nm) + medicação intracanal de $Ca(OH)_2$ (IV + $Ca(OH)_2$). Figuras **5C, 5M, 5A** - Cortes cervical, médio e apical da dentina intrarradicular após tratamento com FS CC ativado com LED azul (λ 480 nm) (CC). Figuras **6C, 6M, 6A** - Cortes cervicais, médios e apicais da dentina intrarradicular após tratamento com FS CC ativado com LED azul (λ 480 nm) + medicação intracanal de $Ca(OH)_2$ (CC + $Ca(OH)_2$). Figuras **7C, 7M, 7A** - Cortes cervical, médio e apical da dentina intrarradicular após tratamento com FS AM ativado com Laser vermelho (λ 660 nm) (AM). Figuras **8C, 8M, 8A** - Cortes cervical, médio e apical da dentina intrarradicular após tratamento com FS AM ativado com Laser vermelho (λ 660 nm) + medicação intracanal de $Ca(OH)_2$ (AM + $Ca(OH)_2$).

Tabela 1: Escores da interface adesiva de cimentação de acordo com os grupos e terços

Parâmetros	**Qualidade da interface adesiva dentina/cemento**				**Formação de *tags* na dentina intrarradicular**					**Profundidade de penetração dos *tags***				
Escores / **Grupos** / **(Terços)**	**0**	**1**	**2**		**0**	**1**	**2**	**3**		**0**	**1**	**2**	**3**	
G1														
Cervical	3	-	-	Aa	-	3	-	-	Aa	-	1	2	-	Aa
Médio	2	1	-	Aa	-	3	-	-	Aa	-	-	3	-	Aa
Apical	-	3	-	Aa	-	3	-	-	Aa	-	-	3	-	Aa
G2														
Cervical	2	1	-	Aa	-	2	1	-	Aa	-	-	3	-	Aa
Médio	1	2	-	Aa	-	2	1	-	Aa	-	-	2	1	Aa
Apical	-	3	-	Aa	-	1	2	-	Aa	-	-	3	-	Aa
G3														
Cervical	3	-	-	Aa	-	2	1	-	Aa	-	1	2	-	Aa
Médio	2	1	-	Aa	-	2	1	-	Aa	-	-	2	1	Aa
Apical	3	-	-	Aa	-	2	-	1	Aa	-	1	1	1	Aa
G4														
Cervical	3	-	-	Aa	-	2	1	-	Aa	-	1	2	-	Aa
Médio	2	1	-	Aa	-	1	2	-	Aa	-	2	1	-	Aa
Apical	3	-	-	Aa	-	1	2	-	Aa	-	1	2	-	Aa
G5														
Cervical	2	1	-	Aa	-	2	1	-	Aa	-	1	1	1	Aa
Médio	2	1	-	Aa	-	1	2	-	Aa	-	-	3	-	Aa
Apical	2	1	-	Aa	-	2	1	-	Aa	5	-	3	-	Aa
G6														
Cervical	2	1	-	Aa	-	2	1	-	Aa	-	2	1	-	Aa
Médio	1	2	-	Aa	-	2	1	-	Aa	-	2	1	-	Aa
Apical	1	2	-	Aa	-	1	2	-	Aa	-	3	-	-	Aa
G7														
Cervical	1	2	-	Aa	-	1	2	-	Aa	-	-	3	-	Aa
Médio	1	2	-	Aa	-	-	3	-	Aa	-	-	3	-	Aa
Apical	1	2	-	Aa	-	-	3	-	Aa	-	-	3	-	Aa

G8														
Cervical	1	2	-	Aa	-	2	1	-	Aa	-	2	1	-	Aa
Médio	-	3	-	Aa	-	1	2	-	Aa	-	1	2	-	Aa
Apical	-	3	-	Aa	-	2	1	-	Aa	-	1	2	-	Aa

CN: Controle negativo; CP: Controle positivo; IV: Indocianina verde; IV + $Ca(OH)_2$: Indocianina verde com medicação de $Ca(OH)_2$; CC: Curcumina; CC + $Ca(OH)_2$: Curcumina com medicação de $Ca(OH)_2$; AM: Azul de metileno; AM + $Ca(OH)_2$: Azul de metileno com medicação de $Ca(OH)_2$. *Médias seguidas de letras diferentes, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, indicam diferenças estatisticamente significativas ($P<0,05$).

5.2. Microtomografia Computadorizada

A quantificação dos espaços vazios e do volume de bolhas presentes na interface adesiva entre a dentina intrarradicular e o cimento resinoso são apresentados na Tabela 2 e a Figura 13 mostra as imagens ilustrativas obtidas na Microtomografia Computadorizada.

Em uma comparação entre os grupos estudados e levando em consideração a quantificação dos *gaps*, observou-se que o terço cervical do Grupo G3 (TFD com o FS Indocianina Verde) apresentou maior número de fendas, enquanto os Grupos G5 (TFD com o FS Curcumina) e G7 (TFD com o FS Azul de Metileno) apresentaram valores intermediários ($p<0,05$). Os Grupos G1 (Controle Negativo), G2 (Controle Positivo), G4 (TFD com o FS Indocianina Verde e medicação intracanal), G6 (TFD com o FS Curcumina e medicação intracanal) e G8 (TFD com o FS Azul de Metileno e medicação intracanal) apresentaram o menor número de fendas. No terço médio, o grupo G3 apresentou o maior número de fendas, seguido pelos grupos G6, G4, G8, G2 e G1, tendo os grupos G4 e G1 os menores números de fendas. No terço apical, o grupo G3 apresentou novamente o maior número de fendas, seguido pelos grupos G7 e G4, e posteriormente pelos grupos G6 e G5. Em uma comparação entre os terços intrarradiculares, também em relação a quantificação dos *gaps,* apenas o grupo G1 não apresentou diferença estatística significativa ($p>0,05$). Nos grupos G2, G3, G6 e G8, o terço cervical foi estatisticamente diferente dos terços médio e apical, contendo o maior número de fendas ($p<0,05$). Nos grupos G4 e G7, os terços cervical e médio foram diferentes estatisticamente do terço apical, que apresentou maior número de fendas. O grupo G5 apresentou diferença estatística significativa nos três terços.

Em relação ao volume das fendas, os grupos G3 e G5, apresentaram no terço cervical os maiores volumes, seguidos pelos grupos G2, G1 e G4. Os grupos G6 e G7 apresentaram volumes intermediários, e o grupo G8 apresentou o menor volume ($p<0,05$). No terço médio, os maiores volumes vazios foram encontrados no grupo G6, seguido pelos grupos G3, G1, G5, G8 e G6. Os grupos G1 e G7 apresentaram volumes intermediários de fendas, e os grupos G4 e G8 apresentaram os menores volumes de espaços vazios ($p<0,05$). No terço apical,

todos os grupos apresentaram diferença estatística significativa ($p<0,05$), em que os grupos G6 e G8 apresentaram os maiores volumes de fendas, e o grupo G4 com o menor volume de fendas. O terço cervical do grupo G1 apresentou menor volume de fendas, diferindo estatisticamente dos terços médio e apical. Nos grupos G2, G3, G4, G5, G6, G7 e G8, todos os terços foram estatisticamente diferentes, mostrando tendencia de maior volume de bolhas no terço apical, e menor volume no terço cervical.

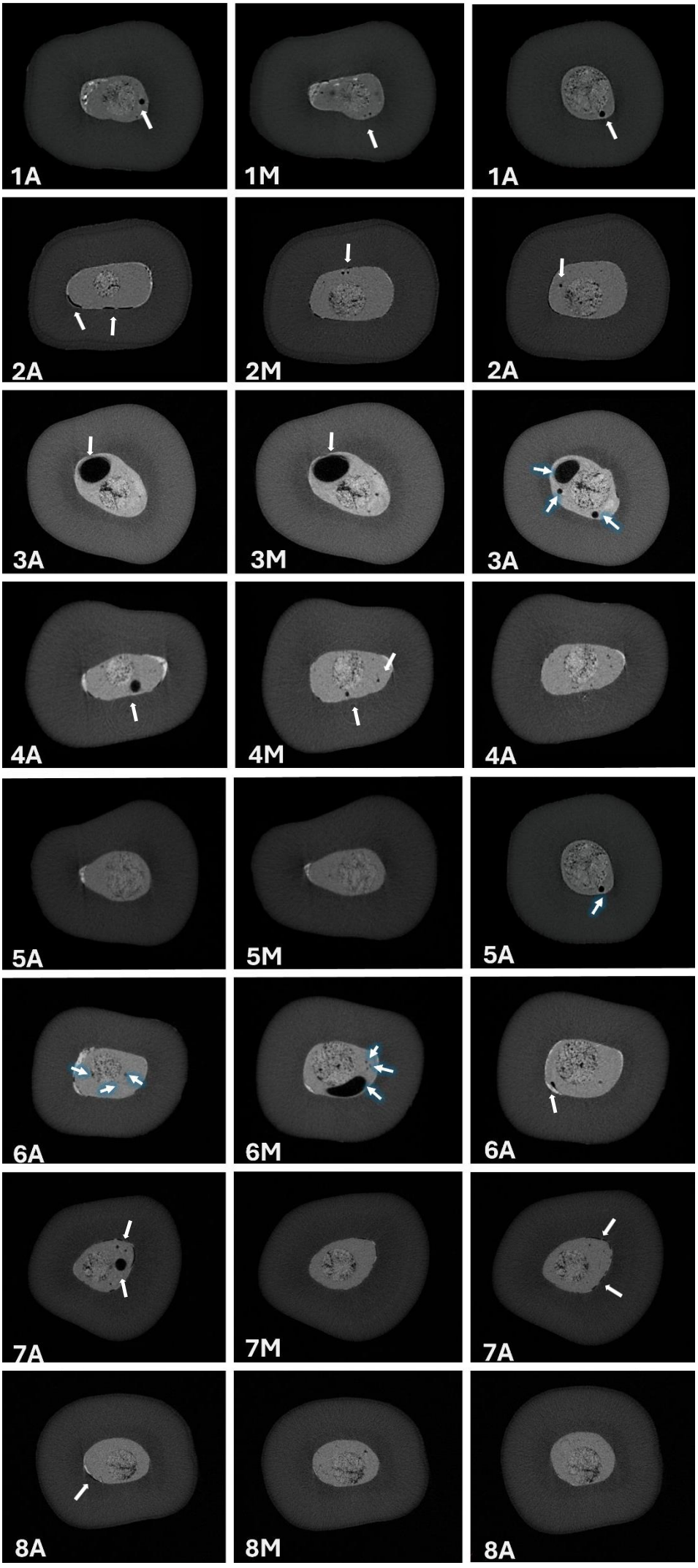

1A
1M
1A
2A
2M
2A
3A
3M
3A
4A
4M
4A
5A
5M
5A
6A
6M
6A
7A
7M
7A
8A
8M
8A

Figura 13. Imagens da Microtomografia Computadorizada utilizadas para avaliar a integridade da interface adesiva da cimentação de pinos de fibra de vidro entre diferentes grupos experimentais e em diferentes terços radiculares. 1C, 1M, 1A representam os terços cervical, médio e apical da dentina intrarradicular irrigada com água deionizada (controle negativo). 2C, 2M, 2A mostram os terços cervical, médio e apical da dentina intrarradicular irrigada com água deionizada e preenchida com medicação intracanal (controle positivo). 3C, 3M, 3A referem-se aos terços cervical, médio e apical da dentina intrarradicular irrigados com água deionizada, seguido de TFD com IV (50 mg/L) e ativação por laser infravermelho (λ 808 nm). 4C, 4M, 4A indicam os terços cervical, médio e apical da dentina intrarradicular irrigada com água deionizada, tratada com TFD usando IV (50 mg/L), ativada por laser infravermelho (λ 808 nm) e preenchida com medicação intracanal. 5C, 5M, 5A descrevem os terços cervical, médio e apical da dentina intrarradicular irrigada com água deionizada, tratada com TFD usando CC (500 mg/L) e ativada por LED azul (λ 480 nm). 6C, 6M, 6A são os terços cervical, médio e apical da dentina intrarradicular irrigada com água deionizada, tratada com TFD usando CC (500 mg/L), ativado por um LED azul (λ 480 nm) e preenchido com medicação intracanal. 7C, 7M, 7A representam os terços cervical, médio e apical da dentina intrarradicular irrigada com água deionizada, tratada com TFD utilizando AM (50 mg/L) e ativada por laser vermelho (λ 660 nm). 8C, 8M, 8A denotam os terços cervical, médio e apical da dentina intrarradicular irrigada com água deionizada, tratada com TFD usando AM (50 mg/L), ativada por laser vermelho (λ 660 nm) e preenchida com medicação intracanal. Setas brancas indicam presença de descontinuidades na cimentação adesiva.

Tabela 2. Valores médios ± desvio padrão da quantificação do gap e volume (MM^3) da formação de vazios no cimento resinoso em função dos grupos experimentais e terços intrarradiculares

Grupos/Terços	**G1**	**G2**	**G3**	**G4**	**G5**	**G6**	**G7**	**G8**
Quantificação (*gaps*)								
Cervical	19.6 ± 5.5 Aa	19.3 ± 7 Aa	224.5 ± 18.7 Ab	29.6 ± 6.6 Aac	38.6 ± 5.9 Ac	28.8 ± 8.9 Aac	53.5 ± 9.1 Ac	35 ± 9.4 Aac
Médio	13.6 ± 9.4 Aa	43.3 ± 7.6 Bab	250 ± 19.2 Bb	22.6 ± 7.2 Aad	95 ± 12.5 Bb	102.8 ± 7.2 Bb	44.5 ± 4.8 Aab	83.5 ± 9.14 Bbd
Apical	20 ± 6.6 Af	40.6 ± 9.1 Ba	238 ± 5.9 Ab	152 ± 11.7 Bc	109 ± 8.15 Cd	113.3 ± 9.5 Bd	161 ± 9.7 Bc	94.5 ± 8.55 Be
Volume (vazios)								
Cervical	276.6 ± 8 Aa	258.1 ± 7.8 Ab	352.4 ± 9.3 Ac	185.4 ± 9.6 Ad	347.5 ± 9 Ac	135 ± 8.6 Ae	137 ± 7.9 Ae	165.2 ± 7.3 Af
Médio	347.3 ± 9.7 Ba	422.2 ± 4.55 Bb	465.4 ± 7.6 Bc	248 ± 7.7 Bd	379.5 ± 5.2 Be	544.3 ± 8.1 Bf	347.3 ± 7.9 Ba	268.5 ± 4.6 Bg
Apical	353.5 ± 8.6 Ba	399.1 ± 3.8 Cb	492.6 ± 4.1 Cc	296.7 ± 3.8 Cd	390.3 ± 5 Cb	797.9 ± 7.9 Ce	715.6 ± 9.7 Cf	323.5 ± 8.1 Cg

Diferenças estatisticamente significativas são indicadas por letras diferentes, com letras maiúsculas na coluna representando os diferentes terços do mesmo grupo e letras minúsculas na linha representando os diferentes grupos para o mesmo terço radicular ($p<0,05$).

6. DISCUSSÃO

A TFD realizada com os diferentes FSs Indocianina Verde, Curcumina ou Azul de Metileno, bem como a utilização da medicação intracanal de hidróxido de cálcio, como apresentado na Tabela 1, não alterou a morfologia da interface adesiva entre a dentina intrarradicular e o cimento resinoso utilizado na cimentação dos PFV. Entretanto, o emprego desta terapia com os diferentes FSs, bem como a utilização da medicação intracanal influenciou no volume e presença de bolhas no cimento resinoso utilizado na cimentação dos PFV, conforme encontrado na Tabela 2. Sendo assim, a primeira e segunda hipóteses nulas testadas foram recusadas. Também foi possível observar, por meio da Tabela 2, que os diferentes terços radiculares influenciaram a análise da qualidade da interface adesiva, apresentando no terço apical maior volume de bolhas do cimento resinoso. Sendo assim, pode-se rejeitar a terceira hipótese nula testada no presente estudo.

Atualmente, diversas estratégias são utilizadas para alcançar a máxima erradicação bacteriana do sistema de canais radiculares em dentes com diagnóstico de necrose pulpar, como a utilização do preparo biomecânico, medicação intracanal à base de hidróxido de cálcio, e a TFD, que potencializa a descontaminação do SCR, e diminui a ocorrência de reinfecções, levando a falha do tratamento endodôntico (69, 70).

Diversos autores como Meire et al. aconselham o uso da TFD simultaneamente ao uso da medicação intracanal de hidróxido de cálcio, como uma terapia complementar ao tratamento endodôntico convencional a fim de se reduzir os MO presentes no canal radicular (71). Entretanto, a combinação destas duas terapias, TFD com os FSs e medicação intracanal de hidróxido de cálcio podem surtir efeitos nas propriedades mecânicas da dentina intrarradicular e na integridade da interface adesiva da cimentação de PFV, como pôde-se observar nos estudos de Strazzi-Sahyon et al. e Ramos et al. (51, 72).

A qualidade da interface adesiva, analisada pela MCF para demonstrar a interação micromecânica entre o cimento resinoso e o substrato dentinário intrarradicular não mostrou diferença estatística significativa nos parâmetros avaliados pelos examinadores, como observado na Tabela 1. De acordo com

Strazzy-Sahyon et al., os dados encontrados sobre a profundidade de penetração do cimento resinoso nos túbulos dentinário devem ser interpretados com grande cautela, pois grandes fatores podem interferir neste resultado.

Em um estudo realizado por Oliveira et al. (73) a respeito das diferentes técnicas de remoção de medicação de hidróxido de cálcio como irrigação convencional, irrigação passiva com ultrassom (PUI) e agitação com Easy Clean, foi observado que nenhuma destas técnicas foi capaz de remover satisfatoriamente toda a medicação intracanal do interior dos canais. Tal fato pode explicar que caso tenha a permanência de hidróxido de cálcio remanescente no interior da dentina intrarradicular, esta pode ter influenciado a adesão e penetrabilidade do cimento resinoso nos túbulos dentinários, dificultando assim a satisfatória infiltração deste material, e poderia explicar a ausência de diferença estatística encontrada nos parâmetros avaliados entre os examinadores neste estudo.

A microtomografia computadorizada consiste em uma análise que verifica a morfologia interna e fornece informações quantitativas e qualitativas sobre materiais analisados, como por exemplo a quantificação de bolhas e mensuração deste volume na camada de cimento resinoso utilizado na cimentação de PFV.

Quando comparados os grupos experimentais quanto à quantificação e mensuração do volume de bolhas no cimento resinoso, observou-se que o grupo G3, em que foi realizado apenas o PBM e a TFD com o fotossensibilizador Indocianina Verde, apresentou tendência a maiores volumes de bolhas no terço cervical e apical, como demonstrado na tabela 2. Segundo Mirhashemi et al. (75) quando o FS-IV é fotoativado pelo Laser Infravervelho ocorre um mecanismo de ação diferente. Este FS quando ativado, produz uma reação fototérmica, e não fotoquímica, quando comparado com os FS-AM e FS-CC. Este fato pode alterar a estrutura física e química da dentina intrarradicular, levando a falha da obturação do canal radicular, levando ao aparecimento de fendas e bolhas no cimento resinoso, como evidenciado neste estudo. Ademais, o calor gerado, pode ser suficiente para que seja gerado dano aos tecidos periodontais e periapicais de um dente mantido em boca e submetido a esta terapia (76).

Conforme observado na Tabela 2, os grupos que receberam a TFD com os FSs Curcumina e Azul de Metileno também apresentaram número considerável de bolhas. Apesar de apresentar boa propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas, cicatrizantes e que não induz citotoxicidade, de acordo com Strazzy-Sahyon et al. (51) o FS Curcumina produz alterações no substrato dentinário, e sua fotoativação pelo Led Azul promove a formação de peróxido de hidrogênio, ânions estes que são capazes de se ligarem a moléculas catiônicas como o cálcio presente na hidroxiapatita, e formam um precipitado que atua como barreira entre o cimento resinoso e a superfície dentinária intrarradicular, interferindo na cimentação, e podendo comprometer, a longo prazo, a manutenção do dente em boca.

O FS Azul de Metileno, é uma substância catiônica, se liga a moléculas de fosfato também presentes nos cristais de hidroxiapatita, alterando a proporção de cálcio e fosfato, e formando um precipitado que também atua como barreira física, afetando a cimentação dos PFV (76). Apesar deste achado, o FS ainda mostra ser o de melhor escolha, pois de acordo com Strazzi-Sahyon et al. e Kofler et al. este FS apresenta bom desempenho quando analisado propriedades antimicrobianas e ter ação citotóxica em células-alvo (24, 78).

Quando se analisa a influência ou não da medicação intracanal de hidróxido de cálcio, observou-se que a utilização desta medicação promoveu alterações nas propriedades da integridade da interface adesiva da cimentação de PFV, isso pode se explicar por estudos como o de Oliveira et al. e Strazzi-Sahyon (71, 24) em que consta que mesmo adotando-se métodos ativos de remoção da medicação intracanal, ainda não é possível remover totalmente de forma satisfatória o hidróxido de cálcio do interior do canal radicular, e os remanescentes obliteram a entrada dos túbulos dentinários e afetam a permeabilidade do cimento resinoso durante o processo de cimentação dos PFV. Ademais, estudos publicados por Strazzi-Sahyon mostraram que grupos em que foi utilizado a medicação intracanal de hidróxido de cálcio houve alteração no substrato dentinário, levando a maior susceptibilidade de fendas e alterações na interface adesiva de cimentação de PFV (24).

Entretanto, neste estudo, foi observado que os grupos em que foi realizado a TFD juntamente com a utilização da medicação intracanal apresentaram menores valores para a quantificação de bolhas, quando comparados aos grupos experimentais que receberam apenas a TFD. Em relação ao volume destas bolhas, todos os grupos que receberam a TFD com a inserção de medicação intracanal posteriormente apresentaram menores valores, com exceção do grupo G6 (TFD com o FS-CC e utilização de medicação intracanal de hidróxido de cálcio), que apresentou os maiores valores de volume de bolhas. Esta diferença pode estar relacionada a forma como a medicação foi retirada do canal radicular, apesar de ter sido utilizado soluções irrigadoras adequadas como hipoclorito de sódio e EDTA.

Avaliando os terços, notou-se maior concentração de número e volume dde fendas localizadas, em sua maioria, no terço apical. Tal fato pode ser explicado pela grande dificuldade em remover-se a medicação de hidróxido de cálcio, pela conformação mais estreita da cavidade no terço apical, e a dificuldade em depositar o cimento resinoso no interior do canal devido a profundidade do mesmo (71, 24, 68).

O uso da terapia fotodinâmica com os diferentes FS Indocianina Verde, Curcumina ou Azul de Metileno, associados à medicação intracanal de hidróxido de cálcio são de grande importância na prática clínica como terapia complementar aos passos convencionais já utilizados, visto que potencializam a descontaminação do SCR. Este estudo apresentou limitações como a utilização de incisivos bovinos, que apresentam diferenças principalmente em tamanho quando comparados aos dentes humanos. Estes incisivos também apresentam anatomia radicular e tamanho de túbulos dentinários diferentes. Houve dificuldade em simular o meio bucal adequado, com presença de saliva, pH correto, biofilme oral e temperatura, logo, não se deve extrapolar os resultados encontrados nesse estudo *in vitro* para a vivência clínica.

Novos estudos mostram-se necessários para avaliar a influência dos diferentes FSs nas propriedades da interface adesiva da cimentação de PFV, bem como a análise da durabilidade a longo prazo deste dente tratado, ao preparo dos PFV previamente à cimentação, bem como sua reanatomização

para melhor adaptação nos incisivos bovinos, ou utilização de dentes humanos, e se possível, imitando as condições bucais para armazenamento destas amostras.

7. CONCLUSÃO

Com base nos resultados encontrados neste estudo, pode-se concluir que:

a) O uso da TFD com os FSs Indocianina Verde e Curcumina associada ao uso da medicação intracanal de hidróxido de cálcio teve influência na qualidade da interface adesiva de cimentação entre o cimento resinoso e a dentina intrarradicular;
b) Os parâmetros avaliados foram afetados pela profundidade dos terços radiculares;
c) O uso da TFD com o FS Azul de Metileno, associada à medicação intracanal mostrou melhores resultados, apresentando menor quantificação de *gaps* e menor volume de bolhas, sendo uma boa opção para complementar a desinfecção do SCR.

REFERÊNCIAS

1. Holland R, Otoboni Filho JA, de Souza V, Nery MJ, Bernabé PF, Dezan E Jr. A comparison of one versus two appointment endodontic therapy in dogs' teeth with apical periodontitis. J Endod. 2003;29(2):121–4.

2. Alves FR, Andrade-Junior CV, Marceliano-Alves MF, Pérez AR, Rôças IN, Versiani MA, Sousa-Neto MD, Provenzano JC, Siqueira Jr JF . Adjunctive steps for disinfection of the mandibular molar root canal system: a correlative bacteriologic, micro-momputed tomography, and cryopulverization approach. J Endod. 2016;42(11):1667–72.

3. Lin LM, Ricucci D, Lin J, Rosenberg PA. Nonsurgical root canal therapy of large cyst-like inflammatory periapical lesions and inflammatory apical cysts. J Endod. 2009;35(5):607–15.

4. Zancan RF, Vivan RR, Milanda Lopes MR, Weckwerth PH, Andrade FB, Ponce JB, Hungaro-Duarte MA. Antimicrobial activity and physicochemical properties of calcium hydroxide pastes used as intracanal medication. J Endod. 2016;42(12):1822–8.

5. Ferreira NS, Martinho FC, Cardoso FG, Nascimento GG, Carvalho CA, Valera MC. Microbiological profile resistant to different intracanal medications in primary endodontic infections. J Endod. 2015;41(6):824–30.

6. Silva L, Nelson-Filho P, Leonardo MR, Rossi MA, Pansani CA. Effect of calcium hydroxide on bacterial endotoxin in vivo. J Endod. 2002;28(2):94–8.

7. Vera J, Siqueira JF Jr, Ricucci D, Loghin S, Fernández N, Flores B, Cruz AG. One- versus two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a histobacteriologic study. J Endod. 2012;38(8):1040–52.

8. Siqueira JF Jr, Rôças IN, Ricucci D, Hülsmann M. Causes and management of post-treatment apical periodontitis. Br Dent J. 2014;216(6):305–12.

9. Siqueira JF Jr, Rôças IN, Paiva SS, Guimarães-Pinto T, Magalhães KM, Lima KC. Bacteriologic investigation of the effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine during the endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2007;104(1):122–30.

10. Vertucci FJ. Root canal anatomy of the human permanent teeth. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology. 1984 Nov;58(5):589–99.

11. Berbert FL, Sivieri-Araújo G, Ramalho LT, Pereira SA, Rodrigues DB, de Araújo MS. Quantification of fibrosis and mast cells in the tissue response of endodontic sealer irradiated by low-level laser therapy. Lasers Med Sci. 2011;26(6):741–7.

12. Sivieri-Araujo, G., Berbert, F.L.C.V., Ramalho, L.T.O. et al. Effect of red and infrared low-level laser therapy in endodontic sealer on subcutaneous tissue. Laser Phys. 2011;21(1):2149–55.

13. Mahmoudi H, Bahador A, Pourhajibagher M, Alikhani MY. Antimicrobial photodynamic therapy: an effective alternative approach to control bacterial infections. J Lasers Med Sci. 2018;9(3):154–60.

14. Allison RR, Moghissi K. Photodynamic Therapy (PDT): PDT Mechanisms. Clin Endosc. 2013;46(1):24–9.

15. Bilkis I, Silman I, Weiner L. Generation of reactive oxygen species by photosensitizers and their modes of action on proteins. Curr Med Chem. 2018;25(40):5528–39.

16. Gomes-Filho JE, Sivieri-Araujo G, Sipert CR, Santos LMS, Queiroz IOA, Men CM, Maia NKC, Cintra LTA, Dezan-Junior E, Bagnato VS, Chaves-Neto AH, Oliveira SHP. Evaluation of photodynamic therapy on fibroblast viability and cytokine production. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2016;13:97–100.

17. Cushnie TP, O'Driscoll NH, Lamb AJ. Morphological and ultrastructural changes in bacterial cells as an indicator of antibacterial mechanism of action. Cell Mol Life Sci. 2016;73(23):4471–92.

18. Rego-Filho FG, de Araujo MT, de Oliveira KT, Bagnato VS. Validation of photodynamic action via photobleaching of a new curcumin-based composite with enhanced water solubility. J Fluoresc. 2014;24(5):1407–13.

19. Faria CMG, Inada NM, Kurachi C, Bagnato VS. Determination of the threshold dose distribution in photodynamic action from in vitro experiments. J Photochem Photobiol B. 2016;162:168–75.

20. Allison RR, Sibata CH. Photodynamic therapy: mechanism of action and role in the treatment of skin disease. G Ital Dermatol Venereol. 2010;145(4):491–507.

21. Allison RR, Moghissi K. Oncologic photodynamic therapy: clinical strategies that modulate mechanisms of action. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2013;10(4):331–41.

22. Sivieri-Araujo G, Queiroz ÍOA, Fabbro RD, et al. Rat tissue reaction and cytokine production induced by antimicrobial photodynamic therapy. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2017;18:315–18.

23. Beltes C, Sakkas H, Economides N, Papadopoulou C. Antimicrobial photodynamic therapy using Indocyanine green and near-infrared diode laser in reducing Entrerococcus faecalis. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2017;17:5–8.

24. Strazzi-Sahyon HB, Banci HA, Maltarollo TFH, Martinez CMT, Rocha EA, Figueiredo RB, et al. The impact of methylene blue photosensitizer, aPDT and a calcium hydroxide-based paste on the physicochemical and mechanical characteristics of root canal dentin and the bonding interface of fiberglass posts. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2024 Apr;253(1011-1344):112878.

25. Shrestha A, Cordova M, Kishen A. Photoactivated polycationic bioactive chitosan nanoparticles inactivate bacterial endotoxins. J Endod. 2015;41(5):686–91.

26. Silva LA, Novaes AB Jr, de Oliveira RR, Nelson-Filho P, Santamaria M Jr, Silva RA. Antimicrobial photodynamic therapy for the treatment of teeth with apical periodontitis: a histopathological evaluation. J Endod. 2012;38(3):360–66.

27. Bulit F, Grad I, Manoil D, Simon S, Wataha JC, Filieri A, Feki A, Schrenzel J, Lange N, Bouillaguet S. Antimicrobial activity and cytotoxicity of 3 photosensitizers activated with blue light. J Endod. 2014;40(3):427–31.

28. Neelakantan P, Cheng CQ, Ravichandran V, Mao T, Sriraman P, Sridharan S, Subbarao C, Sharma S, Kishen A. Photoactivation of curcumin and sodium hypochlorite to enhance antibiofilm efficacy in root canal dentin. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2015;12(1):108–14.

29. ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consolidado de Normas COFID, versão IV, p. 178, Brasília, abril 2013. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/6805ba804f5ea576920df79a71dcc661/ConsolidadoVersaoIVpublicar.pdf?MOD=AJPERES. Acesso 10 de agosto de 2021.

30. Tardivo JP, Del Giglio A, de Oliveira CS, Gabrielli DS, Junqueira HC, Tada DB, Severino D, de Fátima Turchiello R, Baptista MS. Methylene blue in photodynamic therapy: From basic mechanisms to clinical applications. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2005;2(3):175–91.

31. Sivieri-Araujo G, Santos LMS, Queiroz IOA, Wayama MT, Yamanari GH, Martins CM, Dezan-Júnior E, Cintra LTA, Gomes-Filho JE. Photodynamic therapy in Endodontics: Use of a supporting strategy to deal with endodontic infection. Dental Press Endod. 2013;3(2):52-8.

32. Topaloglu N, Gulsoy M, Yuksel S. Antimicrobial photodynamic therapy of resistant bacterial strains by indocyanine green and 809-nm diode laser. Photomed Laser Surg. 2013;31(4):155–62.

33. Wang XH, Peng HS, Yang W, Ren ZD, Liu XM, Liu YA. Indocyanine green-platinum porphyrins integrated conjugated polymer hybrid nanoparticles for near-infrared-triggered photothermal and two-photon photodynamic therapy. J Mater Chem. B, 2017;5:1856-62.

34. Pourhajibagher M, Chiniforush N, Ghorbanzadeh R, Bahador A. Photo-activated disinfection based on indocyanine green against cell viability and biofilm formation of Porphyromonas gingivalis. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2017;17:61–6.

35. Pourhajibagher M, Chiniforush N, Shahabi S, Ghorbanzadeh R, Bahador A. Sub-lethal doses of photodynamic therapy affect biofilm formation ability and metabolic activity of Enterococcus faecalis. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2016;15:159–66.

36. Beltes C, Economides N, Sakkas H, Papadopoulou C, Lambrianidis T. Evaluation of antimicrobial photodynamic therapy using indocyanine green and near-infrared diode laser against Enterococcus faecalis in infected human root canals. Photomed Laser Surg. 2017;35(5):264–69.

37. Pourhajibagher M, Ghorbanzadeh R, Bahador A. Investigation of arginine A-specific cysteine proteinase gene expression profiling in clinical Porphyromonas gingivalis isolates against photokilling action of the photo-activated disinfection. Lasers Med Sci. 2018;33(2):337–41.

38. Yamamoto LY, Loureiro C, Cintra LTA, Leonardo RT, Banci HA, Ribeiro AP, Sivieri-Araujo G, Jacinto RC. Antibiofilm activity of laser ablation with indocyanine green activated photodynamic therapy on root canals infected with Enterococcus faecalis. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2021;35:102377–82.

39. Love RM. Enterococcus faecalis--a mechanism for its role in endodontic failure. Int Endod J. 2001;34(5):399–405.

40. Barbosa-Ribeiro M, De-Jesus-Soares A, Zaia AA, Ferraz CC, Almeida JF, Gomes BP. Antimicrobial susceptibility and characterization of virulence genes of Enterococcus faecalis isolates from teeth with failure of the endodontic treatment. J Endod. 2016;42(7):1022–28.

41. Ghorbanzadeh A, Bahador A, Sarraf P, Ayar R, Fekrazad R, Asefi S. Ex vivo comparison of antibacterial efficacy of conventional chemomechanical debridement alone and in combination with light-activated disinfection and laser irradiation against Enterococcus faecalis biofilm. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2020;29:101648–52.

42. Zorita-García M, Alonso-Ezpeleta LÓ, Cobo M, Del Campo R, Rico-Romano C, Mena-Álvarez J, et al. Photodynamic therapy in endodontic root canal treatment significantly increases bacterial clearance, preventing apical periodontitis. Quintessence International (Berlin, Germany: 1985) [Internet]. 2019 [cited 2023 Mar 29];50(10):782–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31559398/

43. Pak C, Lee DC. Crystalline transformation of colloidal nanoparticles on graphene oxide. CS Appl Mater Interfaces. 2012,4(2):1021–9.

44. Persadmehr A, Torneck CD, Cvitkovitch DG, Pinto V, Talior I, Kazembe M, Shrestha S, McCulloch CA, Kishen A. Bioactive chitosan nanoparticles and photodynamic therapy inhibit collagen degradation in vitro. J Endod. 2014;40(5):703–9.

45. Pourhajibagher M, Chiniforush N, Shahabi S, Palizvani M, Bahador A. Antibacterial and antibiofilm efficacy of antimicrobial photodynamic therapy against intracanal Enterococcus faecalis: an in vitro comparative study with traditional endodontic irrigation solutions. J Dent (Tehran). 2018;15(4):197–204.

46. Mirzaie M, Yassini E, Ashnagar S, Hadadi A, Chiniforush N. Evaluation of temperature change during antimicrobial photodynamic therapy with two different photosensitizers in dental caries. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2016;14:115–8.

47. Shahdad SA, McCabe JF, Bull S, Rusby S, Wassell RW. Hardness measured with traditional Vickers and Martens hardness method. Dent Mater. 2007;23:1079–85.

48. Ilie N, Hilton TJ, Heintze SD, Hickel R, Watts DC, Silikas N, Stansbury JW, Cadenaro M, Ferracane JL. Academy of Dental Materials guidance-Resin composites: Part I-Mechanical properties. Dent Mater. 2017;33:880–94.

49. Suzuki TY, Gomes-Filho JE, Gallego J, Pavan S, Dos Santos PH, Fraga Briso AL. Mechanical properties of components of the bonding interface in different regions of radicular dentin surfaces. J Prosthet Dent. 2015;113:54–61.

50. Strazzi-Sahyon HB, Oliveira AKL, Carvalho AP, Figueiredo RB, Cintra LTA, Gomes-Filho JE, et al. Influence of photodynamic therapy and intracanal medication on Martens hardness, elastic modulus and bond strength of glass-fiber posts to endodontically treated root dentin. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy. 2021 Dec;36:102571.

51. Strazzi-Sahyon HB, Silva PP, Oliveira MS, Cintra LTA, Gomes-Filho JE, Santos PH, Sivieri-Araujo G. Effect of photodynamic therapy on the mechanical properties and bond strength of glass-fiber posts to endodontically treated intraradicular dentin. J Prosthet Dent. 2018;120(2):317.e7.

52. Strazzi Sahyon HB, Silva PPD, Oliveira MS, Cintra LTA, Dezan-Júnior E, Gomes-Filho JE, Jacinto RC, Santos PH, Sivieri-Araujo G. Influence of curcumin photosensitizer in photodynamic therapy on the mechanical properties and push-out bond strength of glass-fiber posts to intraradicular dentin. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2019;25:376–81.

53. Banci HA, Strazzi-Sahyon HB, Duarte M, Cintra L, Gomes-Filho JE, Chalub LO, Berton SA, de Oliveira V, Dos Santos PH, Sivieri-Araujo G. Influence of photodynamic therapy on bond strength and adhesive interface morphology of MTA based root canal sealer to different thirds of intraradicular dentin. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2020;32:102031–9.

54. Akbulut MB, Terlemez A. Does the Photon Induced Photoacoustic Streaming Activation of Irrigation Solutions Alter the Dentin Microhardness? Photobiomodul Photomed Laser Surg. 2019;37:38–44.

55. Piai GG, Duarte MAH, Nascimento ALD, Rosa RAD, Só MVR, Vivan RR. Penetrability of a new endodontic sealer: A confocal laser scanning microscopy evaluation. Microsc Res Tech. 2018;81(11):1246–9.

56. Versiani MA, Ordinola-Zapata R, Keleş A, Alcin H, Bramante CM, Pécora JD et al. Middle mesial canals in mandibular first molars: A micro-CT study in different populations. Arch Oral Biol. 2016;61:130–7.

57. Strazzi-Sahyon HB, Silva PP, Oliveira MS, Cintra LTA, Gomes-Filho JE, Santos PH, Sivieri-Araujo G. Effect of photodynamic therapy on the mechanical properties and bond strength of glass-fiber posts to endodontically treated intraradicular dentin. J Prosthet Dent. 2018;120(2):317.e7.

58. Strazzi-Sahyon HB, Oliveira MS, Silva PP, Banci HA, Melo FS, Martinez CMT, Cintra LTA, Gomes-Filho JE, Dezan-Junior E, De Santos PH, Sivieri-Araujo G. Does photodynamic therapy with methylene blue affect the mechanical properties and bond strength of glass-fiber posts in different thirds of intraradicular dentin? Photodiagnosis Photodyn Ther. 2020;30:101673–80.

59. Strazzi-Sahyon HB, da Silva PP, Nakao JM, da Silva PZ, Nunes LP, Seron MA, Cintra LTA, Dos Santos PH, Sivieri-Araujo G. Influence of two photodynamic therapy sessions and different photosensitizers on the bond strength of glass-fiber posts in different regions of intraradicular dentin. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2021;33:102193–200.

60. Frese C, Decker C, Rebholz J, Stucke K, Staehle HJ, Wolff D Original and repair bond strength of fiber-reinforced composites in vitro. Dent Mater 2014;30:456-62.

61. Pianelli C, Devaux J, Bebelman S, Leloup G. The micro-Raman spectroscopy, a useful tool to determine the degree of conversion of light-activated composite resins. J Biomed Mater Res 1999;48:675-81.

62. Dimitrouli M, Geurtsen W, Lührs AK. Comparison of the push-out strength of two fiber post systems dependent on different types of resin cements. Clin Oral Investig. 2012;16:899-908.

63. Berger SB, Pavan S, Vidal CM, Santos PH, Giannini M, Bedran-Russo AK. Changes in the stiffness of demineralized dentin following application of tooth whitening agents. Acta Odontol. Scand. 2012; 56-60.

64. Dovigo LN, Pavarina AC, Carmello JC, Machado AL, Brunetti IL, Bagnato VS. Susceptibility of clinical isolates of Candida to photodynamic effects of curcumin. Lasers Surg Med. 2011; 43:927-934.

65. Fagundes TC, Somensi DS, Dos Santos PH, Navarro MF. Confocal laser scanning microscopy investigation of Bond interfaces involved in fiber glass post cementation. Braz Dent Sci 2014;17(2).

66. Bitter K, Paris S, Pfuertner C, Neumann K, Kielbassa AM. Morphological and bond strength evaluation of different resin cements to root dentin. Eur J Oral Sci. 2009;117(3):326–33.

67. Crozeta BM, Silva-Sousa YT, Leoni GB, Mazzi-Chaves JF, Fantinato T, Baratto-Filho F, Sousa-Neto MD. Micro computed tomography study of filling material removal from oval-shaped canals by using rotary, reciprocating and adaptive motion systems. J Endod. 2016;42(5):793–7.

68. Strazzi-Sahyon HB, Banci HA, Melo FS, Soares LS, Spin-Neto R, Duarte MAH, Cintra LTA, Dos Santos PH, Sivieri-Araujo G. In vitro study on how photodynamic therapy and calcium hydroxide medication influence adhesive interface properties of glass-fiber posts to intraradicular dentin. J Mech Behav Biomed Mater. 2023; 141:1057

69. Moreira SA, Nunes JB, Colombo FA, Fonseca NDSM, Viola NV. Radiographic and antimicrobial evaluation of enterococcus Faecalis and Actinomyces Israeli microorganisms after photodynamic therapy (aPDT). PhotodiagnosisPhotodyn The R. 2021; 35:102433.

70. Bordea IR, Hanna R, Chiniforush N, Grădinaru E, Câmpian RS, Sîrbu A, Amaroli A, Benedicenti S. Evaluation of the outcome of various laser therapy applications in root canal disinfection: A systematic review. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2020; 29:101611.

71. Meire MA, Coenye T, Nelis HJ, De Moor RJ. Evaluation of Nd: YAG and Er: YAG irradiation, antibacterial photodynamic therapy and sodium hypochlorite treatment on Enterococcus faecalis biofilms. Int Endod J. 2012; 45:482-91.

72. Ramos ATPR, Garcia Belizário L, Venção AC, Fagundes Jordão-Basso KC, de Souza Rastelli AN, de Andrade MF, Kuga MC. Effects of Photodynamic Therapy on the Adhesive Interface of Fiber Posts Cementation Protocols. J Endod. 2018; 44:173-178.

73. de Oliveira RL, Guerisoli DMZ, Duque JA, Alcalde MP, Onoda HK, Domingues FHF, et al. Computed microtomography evaluation of calcium hydroxide-based root canal dressing removal from oval root canals by different methods of irrigation. Microscopy Research and Technique. 2019 Jan 5;82(3):232–7.

74. EĞEMEN A, BELLI S. The effect of primary root-canal treatment on dentinal tubule penetration of calcium silicate-based sealers during endodontic re-treatment. Journal of Endodontics. 2022 Jun;8(9).

75. Mirhashemi A, Janani R, Bahrami R, Chiniforush N. Evaluation of the photodynamic therapy with riboflavin and curcumin on shear bond strength of orthodontic bracket: An in vitro study. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy. 2022 Jun;38:102787.

76. Higuchi N, Hayashi J, Fujita M, Iwamura Y, Sasaki Y, Goto R, et al. Photodynamic Inactivation of an Endodontic Bacteria Using Diode Laser and Indocyanine Green-Loaded Nanosphere. International Journal of Molecular Sciences [Internet]. 2021 Aug 4 [cited 2024 Aug 12];22(16):8384–4. Available from: https://www.mdpi.com/1422-0067/22/16/8384

77. Kofler B, Romani A, Pritz C, Steinbichler TB, Hans Schartinger V, Riechelmann H, et al. Photodynamic Effect of Methylene Blue and Low Level Laser Radiation in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Cell Lines. International Journal of Molecular Sciences. 2018 Apr 7;19(4):110

ANEXOS

ANEXO I – Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

CAMPUS ARAÇATUBA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
CEUA - Ethics Committee on the Use of Animals

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado **"Influência da terapia fotodinâmica com fotossensibilizadores indocianina verde ou curcumina, e da medicação intracanal de hidróxido de cálcio, na adesão de pinos de fibra de vidro à dentina intrarradicular"**, Processo FOA nº 0418-2022, sob responsabilidade de Gustavo Sivieri de Araújo apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 30 de Maio de 2022.

VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 01 de Agosto de 2025.
DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 01 de Setembro de 2025.

CERTIFICATE

We certify that the study entitled **"Influence of photodynamic therapy with indocyanine green or curcumin photosensitilizers, and intracanal medication of calcium hydroxide, on the adhesion of glass-fiber posts to intraradicular dentin"**, Protocol FOA nº 0418-2022, under the supervision of Gustavo Sivieri de Araújo presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on May 30, 2022.

VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: August 01, 2025.
DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: September 01, 2025.

Prof. Dr. João Carlos Callera
Coordenador da CEUA
CEUA Coordinator

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba
Rua José Bonifácio, 1193 – Vila Mendonça - CEP: 16015-050 – ARAÇATUBA – SP
Fone (18) 3636-3234 Email CEUA: ceua.foa@unesp.br