

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 17/03/2018.



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



KENNIA SCAPIN VIOLA

**CITOTOXICIDADE DO ÁCIDO PERACÉTICO: AVALIAÇÃO METABÓLICA,
ESTRUTURAL E DE MORTE EM FIBROBLASTOS L929**

Araraquara

2016



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



KENNIA SCAPIN VIOLA

**CITOTOXICIDADE DO ÁCIDO PERACÉTICO: AVALIAÇÃO METABÓLICA,
ESTRUTURAL E DE MORTE EM FIBROBLASTOS L929**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia - Área de Endodontia, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientador: Profa. Dra. Gisele Faria

Araraquara

2016

Viola, Kennia Scapin

Citotoxicidade do ácido peracético: avaliação metabólica, estrutural e de morte em fibroblastos L929 / Kennia Scapin Viola.-- Araraquara: [s.n.], 2016.

58 f. ; 30 cm.

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

Orientadora: Profa. Dra. Gisele Faria

1. Ácido peracético 2. Endodontia 3. Hipoclorito de sódio
4. Toxicidade 5. Fibroblastos I. Título

KENNIA SCAPIN VIOLA

**CITOTOXICIDADE DO ÁCIDO PERACÉTICO: AVALIAÇÃO METABÓLICA,
ESTRUTURAL E DE MORTE EM FIBROBLASTOS L929**

Dissertação para obtenção do título de Mestre.

Comissão julgadora

Presidente e Orientador: Profa. Dra. Gisele Faria

2º Examinador: Profa. Dra Andrea Soares da Costa Fuentes

3º Examinador: Prof. Dr. Mário Tanomaru-Filho

Araraquara, 17 de março de 2016

DADOS CURRICULARES

KENNIA SCAPIN VIOLA

Nascimento: 10 de novembro de 1990 - Jales – SP

Filiação: Dorivaldo Donizeth Viola
Clarice Scapin Viola

2008-2012 Curso de Graduação em Odontologia
Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul - FUNEC – Santa Fé do Sul-SP

2011-2011 Extensão universitária em Cirurgia oral menor.
Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul - FUNEC – Santa Fé do Sul-SP

2011-2011 Extensão universitária em Prótese dentária.
Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul - FUNEC – Santa Fé do Sul-SP

2011-2011 Extensão universitária em Periodontia.
Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul - FUNEC – Santa Fé do Sul-SP

2012-2012 Extensão universitária em Endodontia.
Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul - FUNEC – Santa Fé do Sul-SP

2012-2012 Extensão universitária em Implantodontia.
Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul - FUNEC – Santa Fé do Sul-SP

2013-2014 Aluna especial de Mestrado
Faculdade de Odontologia de Araraquara – Universidade Estadual Paulista- FOAr
UNESP- Araraquara-SP

2014-2016 Curso de Especialização em Endodontia
Faculdade de Odontologia de Araraquara – Universidade Estadual Paulista- FOAr
UNESP/FAEPO- Araraquara-SP

2014-2016 Curso de Pós-Graduação em Endodontia - Nível Mestrado
Faculdade de Odontologia de Araraquara – Universidade Estadual Paulista- FOAr
UNESP- Araraquara-SP

DEDICO ESTE TRABALHO.....

À **DEUS**, que guia minha vida. Obrigada por me proporcionar saúde, força, paciência, sabedoria, persistência e dedicação para nunca desistir dos meus objetivos. Obrigada senhor pela família espetacular que tenho, pois é nela que me encontro mais perto de ti. Agradeço-te por me permitir concluir essa fase da vida, me amparando e estendendo sua mão nos momentos difíceis, pois sem **Ti** senhor este caminho seria muito mais difícil. Meu coração é muito pequeno e a alegria é muito grande, mas como tu és um Deus do pequeno, quero nessa minha pequenez dizer muito obrigada!

Aos meus pais, **Clarice e Dorivaldo** que são minha base. Obrigado por me concederem a vida nessa família exemplar. Se cheguei até aqui, não foi mérito somente meu, foi uma conquista nossa, uma conquista que foi sendo ganha aos poucos. Isso só foi possível por serem exemplo de simplicidade, honestidade e perseverança. Obrigada por sempre estarem presentes em minha vida e por me acompanharem mesmo que de longe. Muitas vezes vocês presenciaram e sentiram o meu cansaço, preocupação, medos, angústias e mesmo assim me encorajavam dando forças para prosseguir. Obrigada por sempre apoiarem em minhas decisões, mesmo que seus planos fossem sacrificados para que meus objetivos fossem conquistados. Penso que nem todas as palavras que escrevi ou deixei de escrever são as ideais para descrever o quanto sou grata a vocês. Obrigada por tudo, **amo** muito vocês!

Aos meus irmãos **Bruno e Kelly** pelo companheirismo, por todo apoio e confiança que depositaram em mim. Agradeço por todos os momentos que passamos juntos, pelas nossas conquistas e paciência que tivemos uns com os outros. Peço desculpas pelos momentos de impaciência, incompreensão e de algumas “briguinhas”. Tenho um orgulho imenso de vocês, desejo a vocês toda sorte do mundo e estou na torcida para que vocês conquistem seus objetivos e se tornem médicos de sucesso. Amo muito vocês!

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À **Profa. Dra. Gisele Faria**, que me recebeu como sua orientada. Agradeço por ter me proporcionado essa oportunidade de crescimento profissional desde a orientação durante a iniciação científica, despertando a cada dia mais o interesse de realizar pesquisa. Obrigada pelos ensinamentos diários a cada experimento realizado. Agradeço muito pela sua paciência, por sempre estar disponível a corrigir falhas, enfim pela sua orientação como um todo. Hoje, vejo o quanto cresci como profissional e como pessoa graças a você que além de orientadora foi amiga. Tenho um privilégio e orgulho enorme de ter sua companhia durante esses anos e espero que não se limite só a isso, pois sei que há muito o que aprender com o seu vasto conhecimento. Esta pesquisa foi fruto de nossa dedicação em comum, tanto eu como você sabemos o quanto nós empenhamos para que este trabalho fosse realizado, tivemos momentos difíceis que parecia que nada daria certo, mas criamos coragem, corremos atrás e isso só foi possível porque fizemos em parceria. Ao exemplo de orientadora, minha admiração e gratidão.

AGRADECIMENTOS

À minha amiga **Elisandra Márcia Rodrigues**, pelo companheirismo, amizade, compreensão, ensinamentos diários, paciência, enfim, obrigada por tudo que tem feito por mim todos esses anos. Obrigada por ajudar no laboratório de células, com seus ensinamentos que não tem fim. Obrigada por acreditar em mim, em meu potencial e por conselhos que vou levar para a vida toda. Agradeço muito a sua dedicação e colaboração nessa pesquisa, pelos dias que acordamos cedo para ir ao laboratório cuidar das nossas “filhinhas”, seja durante a semana, feirados ou mesmo nos finais de semana. Muito obrigada por ter abraçado essa pesquisa como se fosse sua. Meus sinceros agradecimentos.

Agradeço à diretora **Prof^a.Dr^a. Andréia Affonso Barretto Montandon** e a vice diretora **Prof^a. Dr^a. Elaine Maria Sgavioli Massucato** da Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP-FOAr, por me darem a oportunidade de realizar a pós-graduação nesta Instituição.

Agradeço em especial o **Prof. Dr. Mário Tanomaru-Filho**, que me acolheu muito bem no programa de Pós-graduação em Odontologia, tanto como aluna especial como aluna da pós-graduação. Obrigada, por ter paciência, respeito e confiar em mim. Admiro o quanto é preocupado e sempre quer o melhor para os alunos da pós-graduação. Meu sincero obrigada.

Agradeço em especial o **Prof. Dr. Milton Carlos Kuga**, por ser o principal responsável pela minha vinda para Araraquara para fazer iniciação científica. Agradeço pela sua forma de ensinar, que faz com que todos se apaixonem pelas suas aulas. Obrigada pela constante aprendizagem a cada conversa no dia-a-dia. Muito obrigada pela sua amizade.

Obrigada aos professores do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP/FOAr, **Prof. Dr. Mário Tanomaru Filho, Profa. Dra. Juliane Maria Guerreiro Tanomaru, Prof. Dr. Milton Carlos Kuga, Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho, Prof. Dr. Fábio Luiz Camargo Villela Berbert, Prof. Dr. Renato de Toletto Leonard**, pelo convívio, respeito, ensinamentos, paciência e pela confiança que tiveram em mim.

À **Profa. Dra. Iracilda Zeppone Carlos** da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP, por nos apoiar durante os experimentos e permitir o uso do laboratório para experimentos em cultura de células. Muito obrigada.

Ao **Prof. Dr. João Santana da Silva**, do Departamento de Bioquímica e Imunologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto- USP, por permitir que parte dos nossos experimentos em cultura de células fossem realizados no laboratório de Imunologia.

Aos professores **Paulo Inácio Costa e Andrea Soares da Costa Fuentes** pela colaboração e ajuda nos experimentos.

Às técnicas de laboratório **Marisa Polesi** do Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP, **Mônica A. de Abreu e Lígia G.V.B. Santoro** do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, por darem o suporte técnico e estarem sempre dispostas a nos ajudar.

Aos amigos **Felipe, Deivys e Lucas** da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP, pelo apoio nos experimentos, protocolos e discussão de resultados.

Aos colegas da minha turma de mestrado **Derik Damasceno Barbosa, Lauriê Garcia Belizário, Gabriela Mariana Castro Nuñez, Larissa Torres, Rodrigo Vasconcelos, Aline Silva Andrade, Fernanda Ferrari Esteves Torres, Roberto Almela Hoshino** pela força durante o decorrer do curso. Obrigado pela amizade e pelo apoio.

Aos colegas da pós-graduação, **Ana Livia Gomes Cornélio, Gisselle Moraima Chavez Andrade, Roberta Bosso, Raqueli Viapiana, Natália Kalatzis Sousa, Ariele Patrícia Rabello, Camila Galletti Espir, Camila Almeida Nascimento, Katia Keine, Letícia Boldrin Mestieri, Tiago Fonseca, Camila Lorenzenti, Wilfredo Gustavo Escalante Otárola, Bernardo Costa** pela amizade, confiança e agradável convivência.

As amigas **Miriam Grazielli Magro e Ana Carolina Venção**, que foram as primeiras pessoas da pós-graduação que tive contato e pelo apoio.

Aos meus tios que sempre se preocuparam comigo, em especial **João Donizetti Zagatti e Cleide Scapin Zagatti**, que considero como meus segundos pais. Amo muito vocês.

Aos meus primos e primas, em especial **Jenifer Scapin Zagatti e Milena Novais Costa** que sempre acompanharam mais de perto a minha jornada, dando sempre apoio e acreditando em minha capacidade.

Agradeço as minhas amigas **Mariane Herera Alcalá, Jaqueline Aguiar e Gabriela Pregnolato** pelo incentivo e apoio, mesmo estando longe.

Aos **funcionários do Departamento de Odontologia Restauradora** da Faculdade de Odontologia de Araraquara (UNESP), **Marinho, Wanderley, Creusa, Dona Cida, Priscila, Cida, Alessandra, Lucinha e Lindinha** pelo convívio e simpatia com que sempre me ajudaram.

Aos **funcionários da Seção de Pós-Graduação** da Faculdade de Odontologia de Araraquara (UNESP), **José Alexandre Garcia e Cristiano Afonso Lamounier**, pelo auxílio prestado, pela disponibilidade e pela atenção com que sempre atenderam às minhas solicitações.

À FAPESP pela bolsa a pesquisa (Processo:2014/00723-5)

Agradeço á todos que de alguma forma contribuíram para a elaboração dessa pesquisa.

*“Por vezes sentimos que aquilo que
fazemos não é senão uma gota de
água no mar. Mas o mar seria
menor se lhe faltasse uma gota”.*

(Madre Teresa de Calcuta)

Viola KS. Citotoxicidade do ácido peracético: avaliação metabólica, estrutural e de morte em fibroblastos L929 [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2016.

RESUMO

A solução de ácido peracético (AP) vem sendo citada na literatura odontológica como uma possível solução irrigadora de canais radiculares. Ele apresenta a vantagem de reunir em um só produto atividade antibacteriana e capacidade de remoção de tecido orgânico e de *smear layer*. Para a seleção da solução irrigadora de canais radiculares deve-se levar em consideração não somente os seus benefícios terapêuticos, mas também os possíveis efeitos citotóxicos, uma vez que ela pode entrar em contato com os tecidos periapicais. O objetivo deste estudo foi investigar a citotoxicidade e o mecanismo de agressão celular do AP em comparação com o hipoclorito de sódio (NaOCl) sobre fibroblastos L929 por meio de avaliação metabólica, estrutural, ultraestrutural e de morte celular (necrose e/ou apoptose). As células foram incubadas com diferentes concentrações do AP a 1% e do NaOCl a 2,5%, por 10 minutos. Após este período, foram avaliados o metabolismo celular por meio do ensaio do metiltetrazólio (MTT), a morfologia externa das células em microscópio eletrônico de varredura, a ultraestrutura em microscópio eletrônico de transmissão, o citoesqueleto por meio de marcação para actina e α -tubulina, o tipo de morte celular (necrose ou apoptose) por citometria de fluxo. Os resultados foram analisados empregando ANOVA de dois fatores e pós-teste de Bonferroni ($\alpha=0.05$). Observou-se que o AP apresentou maior citotoxicidade do que o NaOCl. As alterações no metabolismo, na viabilidade, nos filamentos de actina e nos microtúbulos, na morfologia externa e na ultraestrutura das células foram observadas em concentrações menores do AP quando comparado com o NaOCl. A morte celular provocada tanto para o AP quanto para o NaOCl ocorreu predominantemente por necrose. Conclui-se que, embora apresentem o mesmo mecanismo de citotoxicidade, o AP 1% é mais citotóxico que o NaOCl a 2,5%.

Palavras-chave: Ácido peracético. Endodontia. Hipoclorito de sódio. Toxicidade. Fibroblastos.

Viola KS. Cytotoxicity of peracetic acid: metabolic, structural and death evaluation in L929 fibroblasts [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2016.

ABSTRACT

The solution peracetic acid (PA) has been reported in the dental literature as a possible root canal irrigating solution. It has the advantage of attending together in one product antibacterial activity and ability to remove of organic tissue and smear layer. For selection of root canal irrigating solution it should take into account not only its therapeutic benefits, but also the possible cytotoxic effects, since it can contact the periapical tissues. The aim of this study was to evaluate the aggression mechanism of 1% AP compared with 2.5% sodium hypochlorite (NaOCl) on L929 fibroblasts through metabolic evaluation, structural, ultrastructural and cell death (necrosis and / or apoptosis). The cells were incubated with different dilutions of the 1% AP and 2.5% NaOCl for 10 minutes. After this period, it was evaluated the cell metabolism by methyl tetrazolium (MTT) assay, the cell external morphology in scanning electron microscope, the ultrastructure in transmission electron microscope, the cytoskeleton by marking to actin and α -tubulin, the type of cell death (necrosis or apoptosis) by flow cytometry. The results were analyzed using two-way ANOVA and Bonferroni post-test ($\alpha = 0.05$). It was observed that the AP showed higher cytotoxicity than NaOCl. Changes in metabolism, viability, in actin filaments and microtubules, surface morphology and ultrastructure cells were observed at lower dilutions AP when compared to NaOCl. Cell death caused for both the AP and for NaOCl occurred predominantly by necrosis. It was concluded, though they have the same cytotoxicity mechanism, 1% AP is more cytotoxic than the 2.5% NaOCl.

Keywords: Peracetic acid. Endodontics. Sodium hypochlorite. Toxicity. Fibroblasts.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	PROPOSIÇÃO.....	16
3	MATERIAL E MÉTODO.....	17
4	RESULTADO.....	22
5	DISCUSSÃO.....	35
6	CONCLUSÃO.....	40
	REFERÊNCIAS.....	41

1 INTRODUÇÃO

Embora vários fatores possam contribuir para falhas da terapia endodôntica, a persistência da infecção intra-radicular é a principal causa de insucessos (Siqueira¹¹⁷, 2001; Ricucci et al.^{103,104}, 2015; 2016). Desse modo, os principais objetivos do tratamento endodôntico de dentes com necrose pulpar são a redução ou eliminação da infecção microbiana do sistema de canais radiculares (Evans et al.²⁸, 2003; Wuerch et al.¹³⁰, 2004; Kanisavaran⁶⁷, 2008; Kawashima et al.⁶⁸, 2009; Mohammadi, Abbott⁸³, 2009; Pladisai et al.⁹⁹, 2016; van der Meer et al.¹²³, 2016).

O controle da infecção endodôntica é realizado por meio de vários procedimentos combinados (Haapasalo et al.⁵¹, 2000). A instrumentação, irrigação e medicação intracanal reduzem significativamente a microbiota do sistema de canais radiculares (Byström, Sundqvist¹¹, 1985; Faria et al.³³, 2005). No entanto, estes procedimentos não eliminam completamente os micro-organismos de áreas de difícil acesso, como túbulos dentinários, canais laterais e ramificações apicais (Nair et al.⁸⁸, 2005; Harrison et al.⁵⁴, 2010; Ricucci¹⁰² et al., 2010). Assim, devem ser pesquisadas novas soluções irrigadoras e medicamentos visando à obtenção de maiores índices de sucesso do tratamento endodôntico de dentes com necrose pulpar.

O hipoclorito de sódio (NaOCl) é o agente irrigante mais comumente utilizado, principalmente devido a sua atividade antimicrobiana e capacidade de dissolução tecidual (Zehnder¹³³, 2006; Mohammadi⁸², 2008; Haapasalo et al.⁵², 2014; del Carpio-Perochena et al.²³, 2015), sendo considerado o irrigante endodôntico “padrão ouro” (Zehnder¹³³, 2006; Garcia et al.⁴², 2010).

Entretanto, o NaOCl não promove remoção da *smear layer* da superfície dentinária (Violich e Chandler¹²⁵, 2010; Gaddala et al.⁴¹, 2015). Além disso, altera negativamente algumas propriedades mecânicas da dentina e pode reduzir a resistência de união dos cimentos endodônticos e de alguns materiais à dentina (Pascon et al.⁹⁶, 2009; Martinho et al.⁸⁰, 2015; Neelakantan et al.⁹⁰, 2015). O NaOCl a 2,5% é recomendado por diversos autores em casos de necrose pulpar e lesão periapical ou casos de retratamento endodôntico (Siqueira et al.¹¹⁶, 1997; Pladisai et al.⁹⁹, 2016). Concentrações mais elevadas são mais irritantes aos tecidos vivos apicais e periapicais (Zehnder et al.¹³², 2002; Gernhardt et al.⁴³, 2004; Mohammadi⁸², 2008; de Sermeño et al.²⁴, 2009). A procura por uma solução irrigadora alternativa ao NaOCl é focada em substâncias que possuem efeito antimicrobiano, capacidade de dissolução de tecido orgânico (Zehnder¹³³, 2006; Haapasalo et al.⁵², 2014; del Carpio-Perochena et al.²³, 2015) e

remocção da *smear layer* (Lottanti et al.⁷⁵, 2009; Gaddala et al.⁴¹, 2015) e que sejam biocompatíveis (Gomes-Filho et al.⁴⁵, 2008; Bajrami et al.⁴, 2014).

O ácido peracético (AP), que é um agente oxidante forte (Kitis et al.⁷⁰, 2004; Finnegan et al.³⁷, 2010) e desinfetante (Kitis et al.⁷⁰, 2004), vem sendo citado na literatura odontológica como uma possível solução irrigadora de canais radiculares. Ele apresenta a vantagem de reunir em um só produto atividade antibacteriana (Guerreiro-Tanomaru et al.⁴⁹, 2011; Dornelles-Morgental et al.²⁶, 2011; Ordinola-Zapata et al.⁹², 2013) e capacidade de remoção da *smear layer* (Lottanti et al.⁷⁵, 2009; De-Deus et al.²², 2011).

O AP é amplamente utilizado para esterilização ou desinfecção de equipamentos médicos (Kovaleva et al.⁷¹, 2010; Ryu et al.¹⁰⁸, 2013) e dentários termo sensíveis (Ceretta et al.¹³, 2008; Carvalho et al.¹², 2015), para a desinfecção de linhas d'água de unidades auxiliares odontológicas (Montebugnoli et al.⁸⁵, 2004), de alimentos (Nascimento et al.⁸⁹, 2003; Walter et al.¹²⁷, 2009; Kerkaert et al.⁶⁹, 2011; Dai et al.²¹, 2012), de água em companhias de tratamento de água e esgoto, entre outros (Kitis et al.⁷⁰, 2004; Chassot et al.²⁰, 2006; Rossi et al.¹⁰¹, 2007; Mattle et al.⁸¹, 2011). Ele tem ação rápida e é efetivo contra bactérias, fungos, esporos e vírus (Gaddala et al.⁴¹, 2015), em concentrações menores que 0,5% (Baldry⁵, 1983; Lensing, Oei⁷⁴, 1985; Chassot et al.²⁰, 2006; Costa et al.¹⁷, 2015; Lee et al.⁷³, 2016). Ao contrário a maioria dos desinfetantes químicos, os desinfetantes a base de AP não são inativados na presença de matéria orgânica (British Society of Gastroenterology Endoscopy Committee¹⁰, 1998; Chassot et al.²⁰, 2006).

O AP é comercialmente disponível na forma de solução aquosa, onde está em equilíbrio com o peróxido de hidrogênio e ácido acético e quando utilizado se decompõe em subprodutos seguros: água, ácido acético e oxigênio (Martell, Motekaitis⁷⁹, 1992; British Society of Gastroenterology Endoscopy Committee¹⁰, 1998). O ácido acético presente nessa solução é o provável responsável pela dissolução da camada de *smear layer* (De-Deus et al.²², 2011; Lottanti et al.⁷⁵, 2009).

Embora o mecanismo de ação antimicrobiana do AP não esteja completamente esclarecido, acredita-se que ele desnatura proteínas de maneira semelhante ao peróxido de hidrogênio, aumentando a permeabilidade da membrana celular e inativando enzimas essenciais ao metabolismo celular (Kitis et al.⁷⁰, 2004; Fraser et al.³⁹, 1984; Rutala, Weber¹⁰⁷, 1998; Griffiths et al.⁴⁸, 1999). Devido a sua biodegradabilidade, os fabricantes normalmente afirmam que AP é minimamente tóxico e não corrosivo, na concentração utilizada para a desinfecção (Loukili et al.⁷⁶, 2004).

Em Odontologia, o AP tem sido estudado em diferentes concentrações de uso: 1 a 10% para a dissolução de tecido necrótico (Naenni et al.⁸⁶, 2004; Tanomaru-Filho et al.¹²¹, 2015), 0,2% e 2% para descontaminação de resina acrílica (Chassot et al.²⁰, 2006; Fernandes et al.³⁶, 2013; Panariello et al.⁹⁴, 2015) e de resina composta indireta (Samuel et al.¹¹¹, 2011), 1 ou 2% para descontaminação de cones de guta-percha e de Resilon (Salvia et al.¹¹⁰, 2011; Subha et al.¹¹⁹, 2013) 1% para a remoção de medicação intracanal de hidróxido de cálcio (Sagsen et al.¹⁰⁹, 2012) e 0,5 a 4% para irrigação de canais radiculares, seja como agente para a desinfecção ou para a remoção de *smear layer* (Lottanti et al.⁷⁵, 2009; Kuga et al.⁷², 2011; Dornelles-Morgental et al.²⁶, 2011, De-Deus et al.²², 2011; Guerreiro-Tanomaru et al.⁴⁹, 2011; Ordinola-Zapata et al.⁹², 2013; Nagas et al.⁸⁷, 2014).

Ainda não foi determinada na literatura a concentração ideal do AP para uso em Endodontia. Para remoção de *smear layer*, o AP a 0,5% e a 2,25% apresentaram eficácia semelhante a do EDTA a 17% (Lottanti et al.⁷⁵, 2009; De-Deus et al.²², 2011).

Quando empregado com finalidade antibacteriana, o AP a 1% necessitou de um maior tempo de contato com *Enterococcus faecalis* do que o NaOCl a 2,5% e a clorexidina a 2%, para exercer sua atividade avaliada pelo teste de contato direto. Tanto o NaOCl a 2,5%, quanto a clorexidina a 2% eliminaram completamente o *E. faecalis* depois de 30 segundos de contato. Já o AP a 1% levou a redução da contagem bacteriana em 86% em 3 minutos e eliminação de *E. faecalis* após 10 minutos. (Guerreiro-Tanomaru et al.⁴⁹, 2011). No entanto, quando empregado como solução irrigadora durante a instrumentação de canais radiculares de dentes humanos extraídos contaminados com *E. faecalis*, o AP a 1% apresentou eficácia antibacteriana semelhante ao NaOCl a 2,5% e a clorexidina a 2% (Dornelles-Morgental et al.²⁶, 2011). Ordinola-Zapata et al.⁹² (2013) avaliaram o efeito do MTAD, Qmix, Smear Clear, ácido maleico a 7%, iodeto de potássio com iodo a 2%, NaOCl a 2,5% e 5,25% e AP a 4% sobre a arquitetura e viabilidade de biofilme misto formado sobre blocos de dentina. Verificaram que apenas as soluções de NaOCl e de AP a 4% reduziram o número de bactérias viáveis e dissolveram o biofilme de forma estatisticamente significativa.

Para a seleção da solução irrigadora de canais radiculares deve-se levar em consideração não somente os seus benefícios terapêuticos, mas também os possíveis efeitos citotóxicos (Yasuda et al.¹³¹, 2010) uma vez que ela pode entrar em contato com os tecidos periapicais (Yasuda et al.¹³¹, 2010; Bajrami et al.⁴, 2014).

6 CONCLUSÃO

Concluimos que o AP a 1% é mais citotóxico do que o NaOCl a 2,5%. No entanto, ambos apresentam o mesmo mecanismo de citotoxicidade; diminuem o metabolismo celular, levam a desestruturação do citoesqueleto, alterações na morfologia externa, acúmulo de proteínas no retículo endoplasmático rugoso e induzem morte celular predominantemente por necrose.

REFERÊNCIAS*

1. Al Anezi AZ, Jiang J, Safavi KE, Spangberg LS, Zhu Q. Cytotoxicity evaluation of endosequence root repair material. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010; 109(3): 122–5.
2. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. Standard methods for the examination of water and wastewater. 22nd. Washington, DC: American Public Health Association; 2012.
3. Aubut V, Pommel L, Verhille B, Orsière T, Garcia S, About I, et al. Biological properties of a neutralized 2.5% sodium hypochlorite solution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010; 109(2): 120-5.
4. Bajrami D, Hoxha V, Gorduysus O, Muftuoglu S, Zeybek ND, Küçükkaya S. Cytotoxic effect of endodontic irrigants in vitro. *Med Sci Monit Basic Res.* 2014; 20: 22-6.
5. Baldry MG. The bactericidal, fungicidal and sporicidal properties of hydrogen peroxide and peracetic acid. *J Appl Bacteriol.* 1983; 54(3): 417-23.
6. Barsoumian A, Sanchez CJ, Mende K, Tully CC, Beckius ML, Akers KS, et al. In vitro toxicity and activity of Dakin's solution, mafenide acetate, and amphotericin B on filamentous fungi and human cells. *J Orthop Trauma.* 2013; 27(8): 428-36.
7. Bin CV, Valera MC, Camargo SE, Rabelo SB, Silva GO, Balducci I, et al. Cytotoxicity and genotoxicity of root canal sealers based on mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2012; 38(4): 495-500.
8. Botton G, Pires CW, Cadoná FC, Machado AK, Azzolin VF, Cruz IB, et al. Toxicity of irrigating solutions and pharmacological associations used in pulpectomy of primary teeth. *Int Endod J.* 2015, Jul 14. [Epub ahead of print]

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver.
Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/#biblioteca/manual>.

9. Brasileiro LB, Colodette JL, Piló-Veloza D. A utilização de perácidos na deslignificação e no branqueamento de polpas celulósicas. *Quím. Nova*. 2001; 24(6): 819-29.
10. British Society of Gastroenterology Endoscopy Committee. Cleaning and disinfection of equipment for gastrointestinal endoscopy. Report of a working party of the British Society of Gastroenterology Endoscopy Committee. *GUT*. 1998; 42(4): 585-93.
11. Byström A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J*. 1985; 18(1): 35-40.
12. Carvalho MR, dos Santos da Silva MA, de Sousa Brito CA, Campelo V, Kuga MC, Tonetto MR, et al. Comparison of antimicrobial activity between chemical disinfectants on contaminated orthodontic pliers. *J Contemp Dent Pract*. 2015; 16(8): 619-23.
13. Ceretta R, Paula MMS, Angioletto Ev, Meier MM, Mitellstadt FG, Pich CT, et al. Evaluation of the effectiveness of peracetic acid in the sterilization of dental equipment. *Indian J Med Microbiol*. 2008; 26(2): 117-22.
14. Ciapetti G, Granchi D, Cenni E, Savarino L, Cavedagna D, Pizzoferrato A. Cytotoxic effect of bone cements in HL-60 cells: distinction between apoptosis and necrosis. *J Biomed Mater Res*. 2000; 52(2): 338-45.
15. Cobankara FK, Erdogan H, Hamurcu M. Effects of chelating agents on the mineral content of root canal dentin. *Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2011; 112(6): e149-54.
16. Cord CB, Velasco RV, Ribeiro Melo Lima LF, Rocha DG, da Silveira Bueno CE, Pinheiro SL. Effective analysis of the use of peracetic acid after instrumentation of root canals contaminated with *Enterococcus faecalis*. *J Endod*. 2014; 40(8): 1145-8.

17. Costa SA, Paula OF, Silva CR, Leão MV, Santos SS. Stability of antimicrobial activity of peracetic acid solutions used in the final disinfection process. *Braz Oral Res.* 2015; 29. pii: S1806-83242015000100239.
18. Cotti E, Petreucic V, Re D, Simbula G. Cytotoxicity evaluation of a new resin-based hybrid root canal sealer: an in vitro study. *J Endod.* 2014; 40(1): 124-8.
19. Chan CP, Jeng JH, Hsieh CC, Lin CL, Lei D, Chang MC. Morphological alterations associated with the cytotoxic and cytostatic effects of citric acid on cultured human dental pulp cells. *J Endod.* 1999; 25(5): 354-8.
20. Chassot ALC, Poisl MI, Samuel SMW. In vivo and in vitro evaluation of the efficacy of a peracetic acid-based disinfectant for decontamination of acrylic resins. *Braz Dent J.* 2006; 17(2): 117-21.
21. Dai X, Luo H, Jiang L, Ling L, Xue Y, Yu Z. Efficacy of different sanitizing agents and their combination on microbe population and quality of fresh-cut chinese chives. *J Food Sci.* 2012; 77(7): M348-53.
22. De-Deus G, Souza EM, Marins JR, Reis C, Paciornik S, Zehnder M. Smear layer dissolution by peracetic acid of low concentration. *Int Endod J.* 2011; 44(6): 485-90.
23. del Carpio-Perochena A, Bramante CM, de Andrade FB, Maliza AG, Cavenago BC, Marciano MA, et al. Antibacterial and dissolution ability of sodium hypochlorite in different pHs on multi-species biofilms. *Clin Oral Investig.* 2015; 19(8): 2067-73.
24. de Sermeño RF, da Silva LA, Herrera H, Herrera H, Silva RA, Leonardo MR. Tissue damage after sodium hypochlorite extrusion during root canal treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 108(1): e46–9.

25. Donadio M, Jiang J, He J, Wang YH, Safavi KE, Zhu Q. Cytotoxicity evaluation of Activ GP and Resilon sealers in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009; 107(6): e74-8.
26. Dornelles-Morgental R, Guerreiro-Tanomaru JM, Faria-Junior NB, Hungaro-Duarte MA, Kuga MC, Tanomaru-Filho M. Antibacterial efficacy of endodontic irrigating solutions and their combinations in root canals contaminated with *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011; 112(3): 396-400.
27. Edinger AL, Thompson CB. Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy. *Curr Opin Cell Biol.* 2004; 16(6): 663-9.
28. Evans MD, Baumgartner JC, Khemaleelakul SU, Xia T. Efficacy of calcium hydroxide: chlorhexidine paste as an intracanal medication in bovine dentin. *J Endod.* 2003; 29(5): 338-9.
29. Eriksson JE, Paatero GI, Meriluoto JA, Codd GA, Kass GE, Nicotera P, et al. Rapid microfilament reorganization induced in isolated rat hepatocytes by microcystin-LR, a cyclic peptide toxin. *Exp Cell Res.* 1989; 185(1):86-100.
30. Essner MD, Javed A, Eleazer PD. Effect of sodium hypochlorite on human pulp cells: an in vitro study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011; 112(5): 662-6.
31. Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spanó JC, Marchesan MA, Pécora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz Dent J.* 2002; 13(2): 113-7.
32. Euteneuer U, Schliwa M. Persistent, directional motility of cells and cytoplasmic fragments in the absence of microtubules. *Nature.* 1984; 310(5972): 58-61.
33. Faria G, Nelson-Filho P, Freitas AC, Assed S, Ito IY. Antibacterial effect of root canal preparation and calcium hydroxide paste (Calen) intracanal dressing in primary teeth with apical periodontitis. *J Appl Oral Sci.* 2005; 13(4): 351-5.

34. Faria G, Cardoso CR, Larson RE, Silva JS, Rossi MA. Chlorhexidine-induced apoptosis or necrosis in L929 fibroblasts: a role for endoplasmic reticulum stress. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2009; 234(2): 256-65.
35. Festjens N, Vanden Berghe T, Vandenabeele P. Necrosis, a well-orchestrated form of cell demise: signalling cascades, important mediators and concomitant immune response. *Biochim Biophys Acta.* 2006; 1757(9-10): 1371-87.
36. Fernandes FH, Orsi IA, Villabona CA. Effects of the peracetic acid and sodium hypochlorite on the colour stability and surface roughness of the denture base acrylic resins polymerised by microwave and water bath methods. *Gerodontology.* 2013; 30(1): 18-25.
37. Finnegan M, Linley E, Denyer SP, McDonnell G, Simons C, Maillard JY. Mode of action of hydrogen peroxide and other oxidizing agents: differences between liquid and gas forms. *J Antimicrob Chemother.* 2010; 65(10): 2108-15.
38. Forster A, Ungvári K, Györgyey Á, Kukovecz Á, Turzó K, Nagy K. Human epithelial tissue culture study on restorative materials. *J Dent.* 2014; 42(1): 7-14.
39. Fraser JAL, Godfree AF, Jones F. Use of peracetic acid in operational sewage sludge disposal to pasture. *Water Sci Technol.* 1984;17:451– 66.
40. Frese C, Wolff D, Zingler S, Krueger T, Stucke K, Lux CJ, et al. Cytotoxicity of coated and uncoated fibre-reinforced composites. *Acta Odontol Scand.* 2014; 72(5): 321-30.
41. Gaddala N, Veeramachineni C, Tummala M. Effect of peracetic acid as a final rinse on push out bond strength of root canal sealers to root dentin. *J Clin Diagn Res.* 2015; 9(5): ZC75-7.
42. Garcia F, Murray PE, Garcia-Godoy F, Namerow KN. Effect of aquatone endodontic cleanser on *smear layer* removal in the root canals of ex vivo human teeth. *J Appl Oral Sci.* 2010; 18(4): 403-8.

43. Gernhardt CR, Eppendorf K, Kozlowski A, Brandt M. Toxicity of concentrated sodium hypochlorite used as an endodontic irrigant. *Int Endod J* 2004; 37(4): 272–80.
44. Giannelli M, Chellini F, Margheri M, Tonelli P, Tani A. Effect of chlorhexidine digluconate on different cell types: a molecular and ultrastructural investigation. *Toxicol In Vitro*. 2008; 22(2): 308-17.
45. Gomes-Filho JE, Aurélio KG, Costa MM, Bernabé PF. Comparison of the biocompatibility of different root canal irrigants. *J Appl Oral Sci*. 2008; 16(2): 137-44.
46. Gomes-Filho JE, Watanabe S, Gomes AC, Faria MD, Lodi CS, Penha Oliveira SH. Evaluation of the effects of endodontic materials on fibroblast viability and cytokine production. *J Endod*. 2009; 35(11): 1577-9.
47. Gomes-Filho JE, Sivieri-Araujo G, Sipert CR, da Silva Santos LM, de Azevedo Queiroz ÍO, Men Martins C, et al. Evaluation of photodynamic therapy on fibroblast viability and cytokine production. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2016; 13: 97-100.
48. Griffiths PA, Babb JR, Fraise AP. Mycobactericidal activity of selected disinfectants using a quantitative suspension. *J Hosp Infect*. 1999; 41(2): 111–21.
49. Guerreiro-Tanomaru JM, Morgental RD, Faria-Junior NB, Berbert FLCV, Tanomaru-Filho M. Antibacterial effectiveness of peracetic acid and conventional endodontic irrigants. *Braz Dent J*. 2011; 22(4): 285-7.
50. Gunaratnam M, Grant MH. Damage to F-actin and cell death induced by chromium VI and nickel in primary monolayer cultures of rat hepatocytes. *Toxicol In Vitro*. 2004; 18(3): 245-53.
51. Haapasalo HK, Sirén EK, Waltimo TM, Orstavik D, Haapasalo MP. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. *Int Endod J*. 2000; 33(2): 126-31.

52. Haapasalo M, Shen Y, Wang Z, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Br Dent J.* 2014; 216(6): 299-303.
53. Hashimoto M, Sasaki JI, Imazato S. Investigation of the cytotoxicity of aluminum oxide nanoparticles and nanowires and their localization in L929 fibroblasts and RAW264 macrophages. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2016; 104(2): 241-52.
54. Harrison AJ, Chivatxaranukul P, Parashos P, Messer HH. The effect of ultrasonically activated irrigation on reduction of *Enterococcus faecalis* in experimentally infected root canals. *Int Endod J.* 2010; 43(11): 968-77.
55. Hidalgo E, Bartolome R, Dominguez C. Cytotoxicity mechanisms of sodium hypochlorite in cultured human dermal fibroblasts and its bactericidal effectiveness. *Chem Biol Interact.* 2002; 139(3): 265-82.
56. Hooser SB, Beasley VR, Waite LL, Kuhlenschmidt MS, Carmichael WW, Haschek WM. Actin filament alterations in rat hepatocytes induced in vivo and in vitro by microcystin-LR, a hepatotoxin from the blue-green alga, *Microcystis aeruginosa*. *Vet Pathol.* 1991; 28(4): 259-66.
57. International Organization for Standardization. ISO 10993-18: biological evaluation of medical devices -- Part 18: chemical characterization of materials. Geneva, Switzerland: ISO; 2005.
58. International Organization for Standardization. ISO 10993-5: biological evaluation of medical devices - Part 5: tests for in vitro cytotoxicity. Geneva, Switzerland: ISO; 2009.
59. Johnson HJ, Northup SJ, Seagraves PA, Garvin PJ, Wallin RF. Biocompatibility test procedures for materials evaluation in vitro. I. Comparative test system sensitivity. *J Biomed Mater Res.* 1983; 17(4): 571-86.
60. Kamonwanon P, Yodmongkol S, Chantarachindawong R, Thaweeboon S, Thaweeboon B, Sriksirin T. Wear resistance of a modified polymethyl methacrylate artificial tooth

- compared to five commercially available artificial tooth materials. *J Prosthet Dent*. 2015; 114(2): 286-92.
61. Karapınar-Kazandağ M, Bayrak OF, Yalvaç ME, Ersev H, Tanalp J, Sahin F, et al. Cytotoxicity of 5 endodontic sealers on L929 cell line and human dental pulp cells. *Int Endod J*. 2011; 44(7): 626-34.
 62. Kaufman RJ. Orchestrating the unfolded protein response in health and disease. *J Clin Invest*. 2002; 110(10): 1389–98.
 63. Khan AS, Ghosh S, Wickstrom M, Miller LA, Hess R, Haschek W, et al. Comparative pathology of microcystin-LR in cultured hepatocytes, fibroblasts, and renal epithelial cells. *Nat Toxins*. 1995; 3(3): 119-28.
 64. Kincaid MM, Cooper AA. ERADicate ER stress or die trying. *Antioxid. Redox. Signal*. 2007; 9(12): 2373–87.
 65. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. *Patologia: bases patológicas das doenças*. 7^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005. cap.1, p.3-47.
 66. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. *Patologia básica*. 9^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2013. cap.1, p.1-28.
 67. Kanisavaran ZM. Chlorhexidine gluconate in endodontics: an update review. *Int Dent J*. 2008; 58(5): 247-57.
 68. Kawashima N, Wadachi R, Suda H, Yeng T, Parashos P. Root canal medicaments. *Int Dent J*. 2009; 59(1): 5-11.
 69. Kerkaert B, Mestdagh F, Cucu T, Aedo PR, Ling SY, De Meulenaer B. Hypochlorous and peracetic acid induced oxidation of dairy proteins. *J Agric Food Chem*. 2011; 59(3): 907-14.

70. Kitis M. Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review. *Environ Int.* 2004; 30(1): 47-55.
71. Kovaleva J, Degener JE, van der Mei HC. Mimicking disinfection and drying of biofilms in contaminated endoscopes. *J Hosp Infect.* 2010; 76(4): 345-50.
72. Kuga MC, Gouveia-Jorge E, Tanomaru-Filho M, Guerreiro-Tanomaru JM, Bonetti-Filho I, Faria G. Penetration into dentin of sodium hypochlorite associated with acid solutions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011; 112(6): e 155-9.
73. Lee SH, Cappato LP, Corassin CH, Cruz AG, Oliveira CA. Effect of peracetic acid on biofilms formed by *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* isolated from dairy plants. *J Dairy Sci.* 2016; 99(3): 2384-90.
74. Lensing HH, Oei HL. Investigations on the sporicidal and fungicidal activity of disinfectants. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg B.* 1985; 181(6): 487-95.
75. Lottanti S, Gautschi H, Sener B, Zehnder M. Effects of ethylenediaminetetraacetic, etidronic and peracetic acid irrigation on human root dentine and the smear layer. *Int Endod J.* 2009; 42(4): 335-43.
76. Loukili NH, Becker H, Harno J, Bientz M, Meunier O. Effect of peracetic acid and aldehyde disinfectants on biofilm. *J Hosp Infect.* 2004; 58(2): 151-4.
77. Majno G, Joris I. Cells, tissues, and disease: principles of general pathology. 2nd ed. New York: Oxford University Press: 2004; cap.4, p. 128-85.
78. Mannherz HG, Gonsior SM, Wu X, Polzar B, Pope BJ, Wartosch L, et al. Dual effects of staurosporine on A431 and NRK cells: microfilament disassembly and uncoordinated lamellipodial activity followed by cell death. *Eur J Cell Biol.* 2006; 85(8): 785-802.
79. Martell AE, Motekaitis RJ. Determination and use of stability constants. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons; 1992.

80. Martinho FC, Carvalho CA, Oliveira LD, de Lacerda AJ, Xavier AC, Augusto MG, et al. Comparison of different dentin pretreatment protocols on the bond strength of glass fiber post using self-etching adhesive. *J Endod*. 2015; 41(1): 83-7.
81. Mattle MJ, Crouzy B, Brennecke M, Wigginton KR, Perona P, Kohn T. Impact of vírus aggregation on inactivation by peracetic acid and implications for other disinfectants. *Environ Sci Technol*. 2011; 45(18): 7710-7.
82. Mohammadi Z. Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. *Int Dent J*. 2008; 58(6): 329-41.
83. Mohammadi Z, Abbott PV. The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *Int Endod J*. 2009; 42(4): 288-302.
84. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. 1983; 65(1-2): 55-63.
85. Montebugnoli L, Chersoni S, Prati C, Dolci G. A between-patient disinfection method to control water line contamination and biofilm inside dental units. *J Hosp Infect*. 2004; 56(4): 297-304.
86. Naenni N, Thoma K, Zehnder M. Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. *J Endod*. 2004; 30(11): 785-7.
87. Nagas E, Cehreli ZC, Ozgur Uyanik M, Durmaz V, Vallittu PK, Lassila LV. Bond strength of mineral trioxide aggregate to root dentin after exposure to different irrigation solutions. *Dent Traumatol*. 2014; 30(3): 246-9.
88. Nair PN, Henry S, Cano V, Vera J. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after “one-visit” endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2005; 99(2): 231-52.

89. Nascimento MS, Silva N, Catanozi MP, Silva KC. Effects of different disinfection treatments on the natural microbiota of lettuce. *J Food Prot.* 2003; 66(9): 1697-700.
90. Neelakantan P, Sharma S, Shemesh H, Wesselink PR. Influence of irrigation sequence on the adhesion of root canal sealers to dentin: a fourier transform infrared spectroscopy and push-out bond strength analysis. *J Endod.* 2015; 41(7): 1108-11.
91. Nishikiori R, Nomura Y, Sawajiri M, Masuki K, Hirata I, Okazaki M. Influence of chlorine dioxide on cell death and cell cycle of human gingival fibroblasts. *J Dent.* 2008; 36(12): 993-8.
92. Ordinola-Zapata R, Bramante CM, Garcia RB, de Andrade FB, Bernardineli N, de Moraes IG, et al. The antimicrobial effect of new and conventional endodontic irrigants on intra-orally infected dentin. *Acta Odontol Scand.* 2013; 71(3-4): 424-31.
93. Orrenius S, Gogvadze V, Zhivotovsky B. Calcium and mitochondria in the regulation of cell death. *Biochem Biophys Res Commun.* 2015; 460(1): 72-81.
94. Panariello BH, Izumida FE, Moffa EB, Pavarina AC, Jorge JH, Giampaolo ET. Effects of short-term immersion and brushing with different denture cleansers on the roughness, hardness, and color of two types of acrylic resin. *Am J Dent.* 2015; 28(3): 150-6.
95. Paschen W, Frandsen A. Endoplasmic reticulum dysfunction — a common denominator for cell injury in acute and degenerative diseases of the brain? *J Neurochem.* 2001; 79(4): 719–25.
96. Pascon FM, Kantovitz KR, Sacramento PA, Nobre-dos-Santos M, Puppim-Rontani RM. Effect of sodium hypochlorite on dentine mechanical properties: a review. *J Dent.* 2009; 37(12): 903-8.
97. Petrović V, Opačić-Galić V, Zivković S, Nikolić B, Danilović V, Miletić V, et al. Biocompatibility of new nanostructural materials based on active silicate systems and hydroxyapatite: in vitro and in vivo study. *Int Endod J.* 2015; 48(10): 966-75.

98. Pechacek N, Osorio M, Caudill J, Peterson B. Evaluation of the toxicity data for peracetic acid in deriving occupational exposure limits: a minireview. *Toxicol Lett.* 2015; 233(1): 45-57.
99. Pladisai P, Ampornaramveth RS, Chivatxaranukul P. Effectiveness of different disinfection protocols on the reduction of bacteria in *Enterococcus faecalis* biofilm in teeth with large root canals. *J Endod.* 2016; 42(3): 460-4.
100. Prado M, Santos Júnior HM, Rezende CM, Pinto AC, Faria RB, Simão RA, et al. Interactions between irrigants commonly used in endodontic practice: a chemical analysis. *J Endod.* 2013; 39(4): 505–10.
101. Rossi S, Antonelli M, Mezzanotte V, Nurizzo C. Peracetic acid disinfection: A feasible alternative to wastewater chlorination. *Water Environ. Res.* 2007; 79(4): 341–50.
102. Ricucci D, Siqueira JF Jr. Fate of the tissue in lateral canals and apical ramifications in response to pathologic conditions and treatment procedures. *J Endod.* 2010; 36(1): 1-15.
103. Ricucci D, Siqueira JF Jr, Lopes WS, Vieira AR, Rôças IN. Extraradicular infection as the cause of persistent symptoms: a case series. *J Endod.* 2015; 41(2): 265-73.
104. Ricucci D, Candeiro GT, Bugea C, Siqueira JF Jr. Complex apical intraradicular infection and extraradicular mineralized biofilms as the cause of wet canals and treatment failure: report of 2 cases. *J Endod.* 2016; 42(3): 509-15.
105. Rudolf E, Cervinka M, Cerman J, Schroterova L. Hexavalent chromium disrupts the actin cytoskeleton and induces mitochondria-dependent apoptosis in human dermal fibroblasts. *Toxicol In Vitro.* 2005; 19(6): 713-23.
106. Runnegar MT, Falconer IR. Effect of toxin from the cyanobacterium *Microcystis Aeruginosa* on ultrastructural morphology and actin polymerization in isolated hepatocytes. *Toxicon.* 1986; 24(2): 109-15.

107. Rutala WA, Weber DJ. Clinical effectiveness of low-temperature sterilization technologies. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1998; 19(10): 789-804.
108. Ryu M, Matsumura R, Quan G, Furuta T. Comparison of the cytotoxicity of high-level disinfectants by the MTT assay and direct contact assay. *Biocontrol Sci*. 2013; 18(4): 221-5.
109. Sagsen B, Ustun Y, Aslan T, Canakci BC. The effect of peracetic acid on removing calcium hydroxide from the root canals. *J Endod*. 2012; 38(9): 1197-201.
110. Salvia AC, Teodoro GR, Balducci I, Koga-Ito CY, Oliveira SH. Effectiveness of 2% peracetic acid for the disinfection of gutta-percha cones. *Braz Oral Res*. 2011; 25(1): 23-7.
111. Samuel SM, Fracaro GB, Collares FM, Leitune VC, Campregher UB. Influence of a peracetic acid-based immersion on indirect composite resin. *Eur J Prosthodont Rest Dent*. 2011; 19(2): 52-4.
112. Scanlon M, Laster SM, Wood JG, Gooding LR. Cytolysis by tumor necrosis factor is preceded by a rapid and specific dissolution of microfilaments. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989; 86(1): 182-6.
113. Schäfer E, Florek H. Efficiency of rotary nickel-titanium K3 instruments compared with stainless steel hand K-Flexofile. Part 1. Shaping ability in simulated curved canals. *Int Endod J*. 2003; 36(3): 199-207.
114. Schmalz G. Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials advantages and limitations. *J Dent*. 1994; 22 Suppl 2: S6-11.
115. Simbula G, Dettori C, Camboni T, Cotti E. Comparison of tetraacetythylenediamine + sodium perborate and sodium hypochlorite cytotoxicity on L929 fibroblasts. *J Endod*. 2010; 36(9): 1516–20.

116. Siqueira Jr JF, Machado AG, Silveira RM, Lopes HP, Uzeda M. Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from root canal, in vitro. *Int Endod J*. 1997; 30(4): 279-82.
117. Siqueira Jr JF. Etiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. *Int Endod J*. 2001; 34(1): 1-10.
118. Schröder M, Kaufman RJ. The mammalian unfolded protein response. *Annu Rev Biochem*. 2005; 74: 739-89.
119. Subha N, Prabhakar V, Koshy M, Abinaya K, Prabu M, Thangavelu L. Efficacy of peracetic acid in rapid disinfection of Resilon and gutta-percha cones compared with sodium hypochlorite, chlorhexidine, and povidone-iodine. *J Endod*. 2013; 39(10): 1261-4.
120. Taatjes DJ, Sobel BE, Budd RC. Morphological and cytochemical determination of cell death by apoptosis. *Histochem Cell Biol*. 2008; 129(1): 33-43.
121. Tanomaru-Filho M, Silveira BR, Martelo RB, Guerreiro-Tanomaru JM. Influence of concentration and agitation of sodium hypochlorite and peracetic acid solutions on tissue dissolution. *J Contemp Dent Pract*. 2015; 16(11): 876-9.
122. Toh WS, Yap A, Lim SY. In vitro biocompatibility of contemporary bulk-fill composites. *Oper Dent*. 2015; 40(6): 644-52.
123. van der Meer WJ, Vissink A, Ng YL, Gulabivala K. 3D Computer aided treatment planning in endodontics. *J Dent*. 2016; 45: 67-72.
124. Vermes I, Haanen C, Steffens-Nakken H, Reutelingsperger C. A novel assay for apoptosis: Flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on early apoptotic cells using fluorescein labelled Annexin V. *J Immunol Methods*. 1995; 184(1): 39-51.

125. Violich DR, Chandler NP. The smear layer in endodontics - a review. *Int Endod J.* 2010; 43(1): 2-15.
126. Vouzara T, Koulaouzidou E, Ziouti F, Economides N. Combined and independent cytotoxicity of sodium hypochlorite, ethylenediaminetetraacetic acid and chlorhexidine. *Int Endod J.* 2015. doi: 10.1111/iej.12517.
127. Walter EH, Nascimento MS, Kuaye AY. Efficacy of sodium hypochlorite and peracetic acid in sanitizing green coconuts. *Lett Appl Microbiol.* 2009; 49(3): 366-71.
128. Winter J, Ilbert M, Graf PC, Ozcelik D, Jakob U. Bleach activates a redox-regulated chaperone by oxidative protein unfolding. *Cell.* 2008; 135(4): 691-701.
129. Wu BC, Wei CK, Hsueh NS, Ding SJ. Comparative cell attachment, cytotoxicity and antibacterial activity of radiopaque dicalcium silicate cement and white-coloured mineral trioxide aggregate. *Int Endod J.* 2015; 48(3): 268-76.
130. Wuerch RM, Apicella MJ, Mines P, Yancich PJ, Pashley DH. Effect of 2% chlorhexidine gel as an intracanal medication on the apical seal of the root-canal system. *J Endod.* 2004; 30(11): 788-91.
131. Yasuda Y, Tatematsu Y, Fujii S, Maeda H, Akamine A, Torabinejad M, Saito T. Effect of MTAD on the differentiation of osteoblast-like cells. *J Endod.* 2010; 36(2): 260-3.
132. Zehnder M, Kosicki D, Luder H, Sener B, Waltimo T. Tissue-dissolving capacity and antibacterial effect of buffered and unbuffered hypochlorite solutions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002; 94(6): 756-62.
133. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod.* 2006; 32(5): 389-98.
134. Zhang W, Li Z, Peng B. Ex vivo cytotoxicity of a new calcium silicate-based canal filling material. *Int Endod J.* 2010; 43(9): 769-74.

135. Zhou HM, Du TF, Shen Y, Wang ZJ, Zheng YF, Haapasalo M. In vitro cytotoxicity of calcium silicate-containing endodontic sealers. *J Endod*. 2015; 41(1): 56-61.

Autorizo a reprodução deste trabalho.

(Direitos de publicação reservado ao autor)

Araraquara, 17 de março de 2016.

KENNIA SCAPIN VIOLA