



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

BRUNA JORDÃO MOTTA CORAZZA

**AVALIAÇÃO CLÍNICA DO EFEITO DE DIFERENTES
MEDICAÇÕES INTRACANAIS NOS NÍVEIS DE
RESOLVINAS E LIPOXINAS PERIAPICAIS: novas
perspectivas endodônticas**

2018

BRUNA JORDÃO MOTTA CORAZZA

**AVALIAÇÃO CLÍNICA DO EFEITO DE DIFERENTES MEDICAÇÕES
INTRACANAIS NOS NÍVEIS DE RESOLVINAS E LIPOXINAS
PERIAPICAIS: novas perspectivas endodônticas**

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA RESTAURADORA.

Área: Endodontia. Linha de pesquisa: Estudos Clínicos e Laboratoriais de Materiais e Técnicas Endodônticas.

Orientadora: Profa. Tit. Dra. Marcia Carneiro Valera

São José dos Campos

2018

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2019]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Corazza, Bruna Jordão Motta

Avaliação clínica do efeito de diferentes medicações intracanaais nos níveis de resolvina e lipoxinas periapicais: novas perspectivas endodônticas / Bruna Jordão Motta Corazza. - São José dos Campos : [s.n.], 2018.

99 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Odontologia Restauradora) - Pós-Graduação em Odontologia Restauradora - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2018.

Orientador: Marcia Carneiro Valera.

1. Periodontite periapical. 2. Endotoxina. 3. N-acetil cisteína. 4. Resolvina. 5. Lipoxina. I. Valera, Marcia Carneiro, orient. II. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. III. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. IV. Universidade Estadual Paulista (Unesp). V. Título.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Tit. Marcia Carneiro Valera (Orientador)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Prof. Adj. José Benedito Oliveira Amorim

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Prof. Associado José Flávio Affonso de Almeida

Universidade Estadual de Campinas (Unicamp)

Faculdade de Odontologia de Piracicaba

São José dos Campos, 13 de dezembro de 2018.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus queridos pais, **Claudia e Cezar**, que com tanto sacrifício investiram em minha educação, permitindo que eu tivesse acesso a um estudo de qualidade e que pudesse, com muito esforço, chegar até aqui. Que por várias vezes se sentaram ao meu lado, ao longo de minha jornada como estudante, e dedicaram seu tempo ao meu aprendizado, demonstrando, assim, a importância da educação na vida de uma pessoa, e me incentivando a sempre fazer meu melhor.

Acompanharam-me de perto durante todo esse processo, para que eu não desistisse ou desanimasse. Muito da minha perseverança e força de vontade vieram desse cuidado e amor dedicados a mim, e hoje tenho certeza de que sou um bom fruto do trabalho árduo de vocês como pais. Vocês me mostraram o quanto é gratificante obter os resultados positivos das boas escolhas. À minha irmã **Nathalia**, que sempre esteve ao meu lado e se orgulhou do meu trabalho, se preocupou comigo e cuidou de mim, se mostrando minha melhor amiga e companheira para o resto da vida. Amo-os imensamente, e tenham certeza de que este trabalho é dedicado inteiramente a vocês.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Agradeço muito à minha orientadora, **Prof. Tit. Marcia Carneiro Valera**, por ter aceitado me orientar mesmo com tantas responsabilidades em mãos. Tenha certeza de que a senhora me inspirou e motivou a buscar o meu melhor ao longo da minha pós-graduação pois acreditou no meu potencial, e mesmo com a quantidade enorme de orientados conseguiu se dedicar ao meu aprimoramento com tanto cuidado, sempre sendo minuciosa nas correções e nos “puxões de orelha” sem deixar sua doçura e delicadeza de lado. Mostrou-me o que é ser uma professora mais do que apaixonada pela sua função, quando deixava seu horário de almoço de lado para poder nos avaliar e nos ajudar a aprimorar a tão árdua prática da docência.

Levo comigo um pouco da senhora, do seu caráter e competência, da sua dedicação e esforço. Foi um prazer e uma honra ser sua orientada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiro e imensamente à **Deus** por sempre estar ao meu lado e escutar minhas orações, me ajudando a enfrentar todas as etapas deste trabalho lindo e complexo. Por sempre me mostrar qual o melhor caminho a se tomar e pela calma e tranquilidade que coloca em meu coração nos momentos mais difíceis, me ajudando a lidar com as situações e a me manter centrada sempre. Por atender aos meus pedidos e permitir a realização dos meus sonhos.

Aos meus pais **Claudia** e **Cezar** e irmã **Nathalia**, que me incentivaram a continuar estudando e me aprimorando, que são meu porto seguro nos momentos de aflição e que estendem a mão sempre que necessário. Vocês são o combustível que mantém os meus planos e sonhos vivos e é por vocês que me dedico e me esforço tanto.

À minha tia e madrinha **Adriana**, pelo acolhimento e abrigo no último ano, pela ajuda e companhia durante minhas semanas cansativas de especialização. Você foi fundamental para que eu pudesse realizar mais um sonho meu, isso não tem preço.

Às amigas, **Fernanda Tessarin**, **Vanessa Mazza** e **Vanessa de Faria**, que felizmente continuaram a fazer parte da minha vida e tornaram os dias de trabalho pesado no mestrado em dias mais leves e alegres. Agradeço pelos cafés, cervejas, almoços e desabafos. Vocês são mulheres incríveis e me orgulho muito de tê-las como amigas.

Aos colegas de pós-graduação que ingressaram no mestrado comigo, **Laís**, **Thais** e **Ricardo** pela companhia e coleguismo inigualáveis.

À minha equipe de pesquisa, **Felipe**, **Esteban** e **Cássia**, que me acolheram e me ajudaram muito desde o início, vocês foram fundamentais para que esse trabalho fosse para a frente, obrigada por tudo.

Aos meus colegas de pós-graduação **Rayana, Amjad, Alessandra, Felipe, Christian e Diego** por todo o conhecimento compartilhado e pela amizade.

Às professoras **Janete e Estela** e à **equipe de propedêutica**, que me ajudaram permitindo que eu buscasse e triasse meus pacientes em sua clínica, que sempre se lembravam de me enviar casos para que eu pudesse alcançar minha meta, e dedicaram um pouco do seu tempo a me escutar e me auxiliar. Eu não tenho palavras para descrever a minha gratidão.

Ao professor **Sérgio**, que tão gentilmente separava radiografias para que eu selecionasse os casos que se encaixavam em minha pesquisa, e que sempre com muita dedicação e prontidão atendia às minhas dúvidas e pedidos, o senhor é um professor sensacional. Obrigada.

Ao professor **José Flávio Affonso de Almeida**, por gentilmente aceitar fazer parte da minha banca examinadora em um momento tão importante para minha carreira.

Às alunas de iniciação, **Dani Junqueira, Dani Oliveira, Bia, Karol e Karina**, pelo auxílio durante a pesquisa, sempre atendendo aos meus pedidos e estando prontas para ajudar.

Ao professor **Frederico Canato Martinho**, por ter me aceitado como aluna de iniciação e inicialmente de mestrado. Por ter confiado em meu trabalho e por sempre ter demonstrado isso. O senhor me ajudou a crescer como profissional e pessoa, e a escolha de fazer pós-graduação foi em parte pela sua ajuda e orientação excelentes. Muito obrigada.

Ao Sr. **Carlos Guedes e Michelle Ramos** do Apoio à Fapesp pela sempre muito atenciosa disposição em me atender e orientar diante de qualquer dúvida ou problema. Muito obrigada.

À Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, através de seu Diretor,

Prof. Dr. Estevão Tomomitsu Kimpara, e ao Programa de Pós-graduação em Odontologia Restauradora, sob coordenação do **Prof. Adj. Alexandre Luiz Souto Borges**.

À **Capes** pela concessão de bolsa de mestrado.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP** que concedeu bolsa de mestrado (Processo nº 2016/26012-3) e auxílio pesquisa (Processo 2014/25789-9).

À **Josi e Fernanda**, por sempre estarem prontas a nos auxiliar no agendamento de exames, atendimentos clínicos e materiais. Vocês são maravilhosas meninas.

À **triagem**, em especial à **Márcia**, que com muita paciência nos recebia regularmente e montava listas de triagem para que pudéssemos realizar o agendamento e avaliação de pacientes para esta pesquisa.

Aos **pacientes**, que se comprometeram e confiaram em nosso trabalho. Muito obrigada! Sem vocês essa pesquisa não seria possível.

À todos que direta ou indiretamente colaboraram na execução deste trabalho.

Muito Obrigada!

“O que eu penso, não muda nada além do meu pensamento, o que eu faço a partir disso, muda tudo! ”

Leandro Karnal

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	11
RESUMO	13
ABSTRACT	15
1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO DE LITERATURA	25
2.1 Periodontite Apical.....	25
2.2 Medicação Intracanal	28
2.2.1 Hidróxido de Cálcio	28
2.2.2 N-acetil cisteína.....	31
2.3 Mediadores lipídicos	34
2.3.1 Resolvinas.....	34
2.3.2 Lipoxinas	36
3 PROPOSIÇÃO	40
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	41
4.1 Procedimentos Experimentais.....	41
4.1.1 Seleção dos Pacientes	41
4.1.2 Divisão dos grupos experimentais.....	42
4.1.3 Intervenções odontológicas.....	43
4.1.4 Preparo biomecânico.....	46
4.1.5 Medicação intracanal	48
4.1.6 Segunda sessão e obturação.....	49
4.2 Análise Antimicrobiana – Unidades formadoras de colônia (UFC/mL).....	51
4.3 Quantificação de Endotoxinas (LPS) pelo Ensaio Cinético Cromogênico de Lisado de Amebócitos de Limulus (LAL)	52
4.4 Quantificação dos Mediadores Lipídicos pelo Ensaio Imunoenzimático (ELISA)	54

4.5 Análise estatística	55
5 RESULTADO	56
5.1 Análise da efetividade do tratamento endodôntico	56
5.1.1 Avaliação da atividade antimicrobiana para microrganismos aeróbios e anaeróbios.....	56
5.1.2 Análise da redução de endotoxinas dos canais radiculares.....	62
5.2 Análise da efetividade anti-inflamatória das medicações intracanaís ...	64
5.2.1 Avaliação do efeito das medicações sobre os níveis de resolvina E1, D2 e lipoxina A4 do fluido intersticial	64
6 DISCUSSÃO	69
7 CONCLUSÃO	75
REFERÊNCIAS	76
APÊNDICE	91
ANEXOS	94

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Radiografia de dente com necrose pulpar e lesão periapical com indicação para tratamento endodôntico 42
- Figura 2 – Imagens ilustrativas da intervenção endodôntica: a- realização de barreira de resina, b- profilaxia com pasta profilática e c- desinfecção do campo operatório e coroa dental1 44
- Figura 3 - Imagens ilustrativas da intervenção endodôntica: a- abertura coronária e b- coletas do canal 1 45
- Figura 4 - Microtubos com as coletas para análise de endotoxina e microbiológica, 1 cone armazenado em 1ml de água apirogênica e 3 cones em 1 ml de VMGAIII 1..... 46
- Figura 5 - Imagens ilustrativas da intervenção endodôntica: a- início da instrumentação, b- odontometria, c- finalização da instrumentação e d- irrigação final 48
- Figura 6 - Imagens ilustrativas da intervenção endodôntica: a- colocação da medicação, b- selamento 49
- Figura 7 - Fluxograma demonstrativo dos diferentes tempos das coletas de endotoxinas, microbiológicas e do fluido intersticial nos grupos experimentais 50

Figura 8 - Manejo das amostras microbiológicas para semeadura, diluições seriadas até 10^{-3}	52
Figura 9 - Materiais utilizados para quantificação de endotoxinas	53
Figura 10 - Representação gráfica da quantidade de microrganismos em UFC/mL durante o tratamento endodôntico para microrganismos aeróbios	61
Figura 11 - Representação gráfica da quantidade de microrganismos em UFC/mL durante o tratamento endodôntico para microrganismos anaeróbios	62
Figura 12 - Representação gráfica da redução de endotoxinas em EU/mL em cada grupo analisado	64
Figura 13- Concentrações de RvD2 antes e após o uso da NAC	67
Figura 14 – Gráficos com as concentrações iniciais e finais de cada mediador lipídico	68

Corazza BJM. Avaliação clínica do efeito de diferentes medicações intracanaís nos níveis de resolvinas e lipoxinas periapicais: novas perspectivas endodônticas [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2018.

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar o efeito da terapia endodôntica utilizando NaOCl 2,5% e medicações intracanaís a base de hidróxido de cálcio e de N-acetil cisteína (NAC) na desinfecção dos canais radiculares, na redução de endotoxinas e na estimulação de liberação dos mediadores lipídicos Resolvina E1, D2 (RvE1, RvD2) e Lipxina A4 (LxA4). Foram selecionados quarenta dentes unirradiculares, com infecção endodôntica primária e periodontite apical. Os dentes foram aleatoriamente divididos em 3 grupos de acordo com a medicação intracanal a ser utilizada: G1: soro fisiológico + Ca(OH)_2 (n=14), G2: N-Acetil Cisteína (n=13), G3: clorexidina (CLX) + Ca(OH)_2 (n=14). Amostras bacterianas e de endotoxinas foram coletadas do canal radicular, após abertura coronária, após preparo dos canais com limas reciprocantes (Reciproc) selecionadas de acordo com o diâmetro do canal radicular e a solução irrigante (NaOCl 2,5%) e após medicação intracanal. A análise da atividade antimicrobiana foi através da contagem de unidades formadoras de colônias (UFC/mL) de microrganismos remanescentes no canal radicular e quantificação de endotoxinas (EU/mL) através do teste Limulus Amebocyte Lysate – LAL. Após o preparo biomecânico (PBM) os dentes foram preenchidos com as medicações intracanaís de acordo com os grupos por quatorze dias. O fluido intersticial foi coletado após preparo dos canais e após 14 dias de medicação e a quantificação dos mediadores lipídicos (RvE1, RvD2, LxA4) foi realizada através do teste imunoenzimático (ELISA). Os valores obtidos foram tabulados, analisados pelo software GraphPad Prism 6.01 e submetidos aos testes de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e Lilliefors e em seguida aos testes Kruskal-Wallis e Dunn e Anova one-way e Tukey ($P < 0.05$). Para carga microbiana, o PBM reduziu em média 96% dos microrganismos aeróbios e 92,5% dos anaeróbios em todos os grupos ($p < 0,05$). A utilização de medicação intracanal à base de Ca(OH)_2 manteve os níveis atingidos com o PBM ($p > 0,05$), porém no grupo NAC houve aumento de bactérias. Os níveis de endotoxinas diminuíram após o preparo dos canais e o uso das medicações reduziu o nível de endotoxinas porém sem diferença estatística em relação à redução alcançada com o preparo biomecânico. Quanto aos mediadores lipídicos, somente no grupo NAC foi observado aumento de Rv D2. Concluiu-se que o PBM reduziu significativamente o número de bactérias e a quantidade de endotoxinas do canal,

e as medicações à base de Ca(OH)_2 foram eficientes na eliminação de microrganismos do canal, entretanto NAC não foi eficaz para a redução da carga microbiana; As três medicações avaliadas foram capazes de atuar no LPS bacteriano. Somente a NAC foi capaz de influenciar positivamente esse resultado com o aumento de RvD2 pós 14 dias da medicação. Os mediadores lipídicos têm grande potencial para uso nos diversos tipos de tratamento endodôntico.

Palavras-chave: Periodontite periapical. N-acetil cisteína. Endotoxinas. Resolvinas. Lipoxinas.

Corazza BJM. Clinical evaluation of the effect of different intracanal medications on levels of periapical resolvins and lipoxins: new endodontic perspectives[dissertation]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2018.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of endodontic therapy using 2.5% NaOCl and intracane medications based on calcium hydroxide and N-acetyl cysteine (NAC) on root canal disinfection, reduction of endotoxins and stimulation of release of the lipid mediators Resolvin E1, D2 (RvE1, RvD2) and Lipoxin A4 (LxA4). Forty uniradicular teeth were selected, with primary endodontic infection and apical periodontitis. The teeth were randomly divided into 3 groups according to the intracanal medication to be used: G1: saline + Ca (OH) 2 (n = 14), G2: N-Acetyl Cysteine (n = 13), G3: chlorhexidine CLX) + Ca (OH) 2 (n = 14). Bacterial and endotoxin samples were collected from the root canal after coronary opening after preparation of the channels with reciprocal files (Reciproc) selected according to the root canal diameter and the irrigating solution (NaOCl 2.5%) and after intracanal medication. The analysis of the antimicrobial activity was by count of colony forming units (CFU / mL) of microorganisms remaining in the root canal and quantification of endotoxins (EU / mL) using the Limulus Amebocyte Lysate - LAL test. After biomechanical preparation (PBM) the teeth were filled with intracanal medications according to the groups for fourteen days. The interstitial fluid was collected after preparation of the channels and after 14 days of medication and quantification of the lipid mediators (RvE1, RvD2, LxA4) was performed through the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The values obtained were tabulated, analyzed by GraphPad Prism 6.01 software and submitted to Kolmogorov-Smirnov and Lilliefors normality tests, followed by Kruskal-Wallis and Dunn and Anova one-way and Tukey tests ($P < 0.05$). For microbial load, PBM reduced on average 96% of aerobic microorganisms and 92.5% of anaerobes in all groups ($p < 0.05$). The use of intracanal medication based on Ca (OH) 2 maintained levels reached with PBM ($p > 0.05$), but in the NAC group there was an increase of bacteria. The endotoxin levels decreased after the preparation of the canals and the use of the medications reduced the endotoxin level, but without statistical difference in relation to the reduction achieved with the biomechanical preparation. As for the lipid mediators, only in the NAC group an increase of D2 Rv was observed. It was concluded that PBM significantly reduced the number of bacteria and the amount of endotoxins in the canal, and Ca (OH) 2-based medications were efficient in the elimination of

microorganisms from the canal, however NAC was not effective for reducing the load microbial; The three medications evaluated were able to act on bacterial LPS. Only the NAC was able to positively influence this result with the increase of RvD2 after 14 days of the medication. Lipid mediators have great potential for use in various types of endodontic treatment.

Key words: Periapical periodontitis. N-acetyl cysteine. Endotoxins. Resolvins. Lipoxins.

1 INTRODUÇÃO

As infecções endodônticas ocorrem quando bactérias conseguem entrar no sistema de canais radiculares através de lesões cariosas profundas, trincas, vasos sanguíneos apicais ou mesmo através do periodonto causando danos ao tecido pulpar e provocando necrose deste (Tennert et al., 2014). A contaminação dos canais gera uma resposta do sistema imunológico do hospedeiro levando à inflamação periapical, esse processo terá como sequela a reabsorção de tecidos duros e destruição de outros tecidos formando-se assim a lesão periapical (Nair, 2004).

O principal objetivo da resposta inflamatória é detectar e eliminar os fatores que interferem na homeostase, além de proteger o hospedeiro das agressões (Serhan, Chiang, 2009). Uma resposta inflamatória típica é constituída por quatro componentes: indutores inflamatórios; sensores de detecção; mediadores e tecidos-alvo afetados, o tipo e grau da resposta inflamatória são dependentes da natureza do gatilho (bactérias, vírus ou parasitas) e da sua persistência (Medzhitov, 2010). O reconhecimento dos patógenos bacterianos é realizado por receptores de reconhecimento padrão, tais como os receptores Toll-like, que são expressos por macrófagos presentes no tecido (Aderem, Ulevitch, 2000; Darveau, 2010). A ligação aos receptores Toll-like induz a produção de citocinas inflamatórias, quimiocinas e mediadores lipídicos pró-inflamatórios, tais como as prostaglandinas que são os principais responsáveis por estabelecer a resposta inflamatória de forma eficaz e promover a eliminação bacteriana. As interleucinas IL-1 β , IL-6, fator de necrose tumoral TNF- α e prostaglandina E2 são produzidos localmente nos tecidos inflamados. Citocinas pró-inflamatórias na circulação resultam em leucocitose e presença de proteínas da fase aguda, e a exposição contínua aos agentes agressores, antígenos solúveis

reagem expressando anticorpos circulantes específicos para formar complexos imunológicos que irão amplificar a inflamação (Freire, Van Dyke, 2013).

A detecção da resposta inflamatória por células da imunidade inata e células residentes desencadeia a produção de mediadores que modulam o destino de inflamação. Neutrófilos, macrófagos, células dendríticas e mastócitos produzem proteínas de baixo peso molecular - citocinas - que controlam o início da inflamação, sua manutenção, amplitude e a duração da resposta. A regulação genética, que conduz à secreção de citocinas pró-inflamatórias a partir de uma variedade de tipos celulares é geralmente dependente da ativação transcricional ativada pelo fator nuclear kappaB (Baldwin, 1996; Hanada, Yoshimura, 2002). As vias do fator nuclear kappaB são ativadas por receptores de reconhecimento padrão, tais como lipopolissacáridos (LPS), através da via do receptor Toll-like (Hanada, Yoshimura, 2002). As quimiocinas, citocinas com funções quimiotáticas, induzem a migração de células para o local da infecção. Uma vez que os leucócitos saem dos vasos sanguíneos, estes são atraídos por gradientes funcionais de fatores quimiotáticos para o local de infecção (Zlotnik and Yoshie, 2000)(Rossi, Zlotnik, 2000; Zlotnik, Yoshie, 2000). As quimiocinas são sintetizadas por uma variedade de tipos celulares, incluindo células endoteliais, epiteliais e do estroma, bem como por leucócitos. O fracasso da resposta inflamatória ou a ativação contínua das respostas torna-se prejudicial para o tecido levando ao desenvolvimento de lesões crônicas, que chamamos de doenças inflamatórias (Cekici et al., 2014).

Nas infecções endodônticas primárias, há predomínio de bactérias gram-negativas (Martinho et al., 2010; Rôças, Siqueira, 2010) essas bactérias possuem como constituinte de sua parede celular os lipopolissacarídeos (LPS) (Rietschel, Brade, 1992) que são liberados durante a divisão ou morte das células (Gorbet, Sefton, 2005). Essas moléculas são altamente virulentas, provocando resposta inflamatória exacerbada (Pitts et al., 1982), podendo desencadear a liberação de

citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 alfa e TNF-alfa, com consequente liberação de matriz de metaloproteinase -1 (MMP-1) causando reabsorção óssea.

Sendo assim, para obter o sucesso da terapia endodôntica é necessário eliminar a infecção do canal (Mohammadi, Dummer, 2011), e também inativar os subprodutos dos microrganismos como o LPS a fim de modular a inflamação (Siqueira, Rôças, 2007).

A instrumentação do canal radicular resulta em redução significativa, mas não completa, das bactérias (Hulsmann et al., 2005; Shuping et al., 2000), sendo necessário o uso de substâncias químicas auxiliares, como os irrigantes com ação bactericida que são utilizadas durante o preparo biomecânico (Haapasalo et al., 2010; Shuping et al., 2000) e a medicação intracanal para a obtenção da assepsia do sistema de canais, auxiliando na modulação da inflamação (Athanasiadis et al., 2007).

O hipoclorito de sódio é a solução irrigadora mais utilizada devido à sua capacidade de dissolver a matéria orgânica e matar microrganismos de forma eficaz (Haapasalo et al., 2010) e o hidróxido de cálcio é a medicação mais utilizada por sua propriedade antimicrobiana associada à liberação de íons hidroxila que são altamente oxidantes e provocam danos à membrana das bactérias, desnaturando proteínas e danificando o DNA (Siqueira, Lopes, 1999). Essa medicação age sobre o LPS bacteriano, inativando-o (Oliveira et al., 2005) e também é capaz de inibir citocinas do tipo Th1, atuando no processo inflamatório (Martinho et al., 2015).

A clorexidina (CLX) também tem sido utilizada como medicação intracanal, especialmente associada ao hidróxido de cálcio (Valera et al., 2010b) pois é um agente antimicrobiano de amplo espectro, e possui ação antimicrobiana residual após exposição do canal a essa substância por longos períodos, atua na eliminação de bactérias resistentes e possui baixo grau de toxicidade (Basrani, Lemonie, 2005).

A N-acetil cisteína (NAC) é uma substância derivada da cisteína que possui ação antioxidante pela presença do grupo tiol (Samuni et al., 2013). Os grupos tiol estimulam a síntese de GSH, atuam na desintoxicação e eliminam espécies reativas de oxigênio (ROS) (Cacciatore et al., 2010). Vem sendo estudada e apresentou bons resultados como medicação analgésica em relação à dor pós tratamento endodôntico (Ehsani et al., 2012) e também se mostrou eficaz contra patógenos e biofilme endodônticos em estudos in vitro (Choi et al., 2018; Moon et al., 2016).

Tem sido sugerido que defeitos na resolução dos mecanismos inflamatórios resultam em um fenótipo inflamatório presente em doenças crônicas, e os mediadores lipídicos podem eliminar esse fenótipo. Esses mediadores lipídicos pró-resolvedores desempenham o papel de moléculas naturais na manutenção da homeostase, apresentando-se como agentes terapêuticos promissores para doenças humanas (Spite et al., 2014).

Durante muitos anos, somente as lipoxinas haviam sido identificadas como mediadores anti-inflamatórios (Serhan et al., 2008), mas atualmente novos mecanismos da suplementação alimentar com ômega-3 e liberação de mediadores lipídicos com ação anti-inflamatória foi descoberto (Serhan et al., 2002, 2000). Esse conjunto separado de mediadores lipídicos tais como as lipoxinas, derivadas do ácido araquidônico ou desencadeadas pela aspirina as resolvinas da série E, derivadas do ácido ômega3-eicosapentaenóico, as resolvinas da série D, derivadas do ácido docosaexaenoico, as protectinas e maresinas atuam como agonistas endógenos para ativar o fim da inflamação, estimulando sua resolução, (Gilroy et al., 2004; Serhan, 2010). Os mediadores lipídicos, atuam como sinalizadores endógenos de parada inflamatória, proporcionando evidências de que a resolução da inflamação é um processo bioquimicamente ativo (Serhan et al., 2000). Esses mediadores lipídicos têm chamado atenção devido a sua potente capacidade anti-inflamatória e pró-

resolvedora em concentrações tão baixas quanto nanomols (Serhan et al., 2002). Ambas as ações possuem o mesmo objetivo, eliminar a inflamação e a dor. O tratamento com resolvinas é de particular interesse, pois ao contrário dos anti-inflamatórios, as estratégias das resolvinas não são unicamente dependentes do bloqueio de um evento natural, em vez disso são orientadas para a promoção de uma via de defesa natural (Yoo et al., 2013).

As interações seletivas dos mediadores lipídicos com os receptores acoplados à proteína-G, molécula de transdução de sinal, das células da imunidade inata induzem o fim do infiltrado leucocitário, o retorno da permeabilidade vascular, morte dos neutrófilos por apoptose, presença de infiltrado não-flogístico de monócitos e macrófagos e remoção apoptótica de neutrófilos, bactérias e debris necróticos. Estes eventos celulares alcançam o resultado ideal da inflamação, ou seja, a resolução, com o retorno à homeostase tecidual (Freire, Van Dyke, 2013).

Resolvinas (Rv) são mediadores lipídicos, com liberação induzida endogenamente durante a fase de resolução da inflamação (Serhan, Chiang, 2009). Estes mediadores lipídicos são biossintetizados a partir dos ácidos graxos essenciais precursores do ômega-3 poliinsaturado de ácido eicosapentaenoico e ácido docosaexaenoico derivados da dieta (Bannenberg et al., 2005). Os principais grupos da família de resolvinas têm estruturas químicas distintas: série E, derivados do ácido eicosapentaenoico; série D, derivados do ácido docosaexaenoico (Simopoulos, 2002). As Rvs da série E são produzidas pelo endotélio vascular via ciclooxigenase-2 modificada pela aspirina que converte ácido eicosapentaenoico em 18R-hydroperoxyeicoapentaenoic e ácido 18S-hydroperoxyeicoapentaenoic. Esses intermediários são rapidamente absorvidos por neutrófilos humanos e metabolizados em RvE1 e E2 pela lipoxigenase-5. A produção de RvE1 é aumentada no plasma de indivíduos que usam aspirina ou ácido eicosapentaenoico, resultando na melhoria dos sinais clínicos

inflamatórios (Ho et al., 2010; Makriyannis, Nikas, 2011; Oh et al., 2011). Da mesma forma, demonstrou-se que as Rv da série D, derivadas do ácido docosaexaenoico são capazes de reduzir a inflamação, diminuindo a adesão de leucócitos-plaquetas; e a conversão do ácido docosaexaenoico desencadeada pela aspirina produz moléculas com função anti-inflamatória e pró-resolvedora (Serhan, Chiang, 2009).

As lipoxinas (Lx) são moléculas pró-resolvedoras naturais produzidas a partir de ácidos graxos endógenos. Derivados do ácido araquidônico, as lipoxinas têm ações anti-inflamatórias e de resolução potentes (Samuelsson et al., 1987; Serhan et al., 2000, 1995). As LxA4 e B4 foram as primeiras isoladas e identificadas como inibidoras da infiltração de neutrófilos e estimuladoras do recrutamento de macrófagos (Bannenberg et al., 2004; Maddox et al., 1998). Três vias principais de síntese de Lxs foram identificadas, na primeira via, em tecidos de mucosas humanas, tais como no trato gastrointestinal, vias aéreas e na cavidade oral, a oxigenação sequencial de ácido araquidônico pela 15-lipoxigenase e 5-lipoxigenase, seguido por hidrólise enzimática, conduzem à produção de LxA4 e LxB4 (Levy et al., 2001). Na segunda via, em vasos sanguíneos, a 5-lipoxigenase biossintetiza a lipoxina A4, e a 12-lipoxigenase das plaquetas produz a lipoxina B4. A LxA4 regula as funções celulares através da ativação de receptores específicos; estes receptores são expressos por neutrófilos e monócitos. Uma terceira via da síntese é desencadeada pela aspirina. A aspirina promove a acetilação da ciclooxigenase-2, resultando em uma alteração na atividade da ciclooxigenase-2 que passa a produzir 15R-HETE, leucócitos 5-LOX convertem este produto em 15-epi-LXA4 que são denominados lipoxinas desencadeadas pela aspirina. As células que expressam a ciclooxigenase-2 incluem células endoteliais vasculares, células epiteliais, macrófagos e neutrófilos. Além da síntese de lipoxinas, a aspirina também bloqueia a síntese de prostaglandinas por acetilação da ciclooxigenase-2, inibindo a inflamação

(Serhan et al., 2008).

A LxA4, lipoxinas desencadeadas pela aspirina e a RvE1 mostraram capacidade em inibir o recrutamento de neutrófilos, atenuar a expressão do gene pró-inflamatório e reduzir a gravidade da colite em modelos murinos (Lee et al., 1984; Serhan et al., 2000). A presença de infiltrado neutrofílico e a remoção de fagócitos foram observados quando as RvE1 e D2, Lx e maresinas foram utilizadas no tratamento da colite (Arita et al., 2005; Hudert et al., 2006; Schwab et al., 2007). Em um modelo semelhante, a RvD1 foi associada à regulação de microRNAs, genes-alvo e com a redução de leucotrieno B4, prostaglandina D2, tromboxano A2, prostaglandina F2a no exsudato peritoneal (Fredman et al., 2012; Krishnamoorthy et al., 2012). Em modelos de doenças periodontais, a LxA4 / lipoxinas desencadeadas pela aspirina impediram a perda óssea e de tecido conjuntivo (Wallace, Fiorucci, 2003).

Topicamente aplicada, a RvE1 reduziu a inflamação local e a perda óssea induzida pelos osteoclastos no periodonto de coelhos (Hasturk et al., 2006). Na periodontite agressiva localizada, a RvE1 foi capaz de reverter a função defeituosa dos macrófagos (Fredman et al., 2011) e inibir a liberação de superóxidos pelos neutrófilos (Hasturk et al., 2006). Outros estudos também mostram que as resolvinas D e E1 são capazes de contribuir na eliminação bacteriana (Chiang et al., 2012; Seki et al., 2010). Um estudo clínico em pacientes com periodontite moderada a severa avaliou a suplementação da dieta com ômega-3 e aspirina e o tratamento local com raspagem e alisamento radicular. Foi observado que as bolsas periodontais diminuíram de tamanho promovendo aumento nos níveis de inserção clínica e redução nos níveis de mediadores inflamatórios na saliva quando comparados apenas ao tratamento periodontal sozinho (El-Sharkawy et al., 2010).

Diante do exposto, o tratamento de doenças periodontais e endodônticas com um ou mais mediadores lipídicos específicos é claramente uma opção na

prática odontológica, no entanto, mais estudos são necessários no que diz respeito ao seu uso como medicação intracanal em pacientes com periodontite apical.

Portanto, o presente estudo avaliou se medicações a base de Ca(OH)_2 com soro fisiológico, Ca(OH)_2 com CLX e NAC estimulam ou não a liberação de resolvinas e lipoxinas melhorando o reparo das lesões periapicais. E ainda comparou o efeito destas medicações na eliminação de endotoxinas e microorganismos presentes nas infecções endodônticas primárias.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Periodontite Apical

A infecção do sistema de canais radiculares gera uma resposta inflamatória no hospedeiro, sendo esta a principal causa da periodontite apical (Nair, 1997). Kakehashi et al. (1965) evidenciaram a importância dos microrganismos na etiologia das alterações pulpare e periapicais. Nesse estudo foram comparadas alterações pulpare resultantes de exposições não tratadas em ratos germ-free e em ratos que apresentavam microbiota normal. Todos os animais receberam ração esterilizada e após 18 dias de experimento foi possível verificar que no grupo dos animais com microbiota normal o tecido pulpar apresentava-se necrosado e com abscesso periapical, em contrapartida no grupo germ-free não havia necrose pulpar ou lesão periapical, o infiltrado inflamatório foi pequeno e havia reparo da região lesionada por dentina reparadora. Outro estudo clássico realizado para demonstrar o papel dos microrganismos no desenvolvimento das lesões inflamatórias periapicais foi o de Möller et al. (1981) que utilizou nove macacos e provocou necrose asséptica em 78 dentes desses animais, 26 dentes foram selados mantendo a cavidade pulpar asséptica e 52 foram contaminados por bactérias indígenas. Após 6 a 7 meses foram realizadas análises clínica, radiográfica, microbiológica e histológica tornando-se evidente que nos casos de polpas necrosadas e não infectadas os tecidos periapicais não apresentavam inflamação ou indícios de reparação, entretanto nos dentes com polpa infectada, houve desenvolvimento de lesões periapicais.

As infecções primárias são polimicrobianas porém com predomínio de bactérias gram-negativas, e estas, por sua vez, possuem em sua parede celular os

lipopolissacarídeos (LPS) que são considerados um dos principais estimuladores da resposta inflamatória (Martinho et al., 2014). Schein e Schilder (2006) demonstraram essa atividade do LPS ao coletarem amostras do canal de 40 pacientes que foram divididos em 4 grupos clínicos, sendo eles, dentes com polpas vitais sem sintomas, dentes com polpas vitais apresentando sintomas, dentes com polpa necrosada sem sintomas e dentes com polpa necrosada que apresentavam sintomas, e 2 grupos radiográficos, dentes sem lesão periapical visível radiograficamente e dentes com lesão periapical visível radiograficamente. Após as análises, foi percebido que nos dentes com necrose pulpar os níveis de LPS eram mais elevados, evidenciando o predomínio de bactérias gram-negativas nas infecções primárias. Pôde-se, ainda, correlacionar positivamente o aumento do nível de LPS com sinais clínicos e radiográficos, demonstrando assim o potencial inflamatório dessas moléculas.

Os patógenos bacterianos são reconhecidos por receptores de reconhecimento padrão (Aderem, Ulevitch, 2000; Darveau, 2010), tais como os receptores Toll-like, que são expressos por macrófagos presentes no tecido. A ligação dos receptores Toll-like induz a produção de citocinas inflamatórias, quimiocinas e mediadores lipídicos pró-inflamatórios, tais como as prostaglandina (Freire, Van Dyke, 2013). As citocinas são proteínas de baixo peso molecular que controlam o início da inflamação, sua manutenção, amplitude e a duração da resposta. A regulação genética, que conduz à secreção de citocinas pró-inflamatórias a partir de uma variedade de tipos celulares é geralmente dependente da ativação transcricional ativada pelo fator nuclear kappaB (Baldwin, 1996; Hanada, Yoshimura 2002). As vias do fator nuclear kappaB são ativadas por receptores de reconhecimento padrão, tais como lipopolissacarídeos, através da via do receptor Toll-like (Hanada, Yoshimura 2002). O fracasso da resposta inflamatória ou a ativação contínua das respostas torna-se prejudicial para o tecido levando ao desenvolvimento de lesões

crônicas, que chamamos de doenças inflamatórias (Cekici et al., 2014).

Leonardi et al. (2015) analisaram a expressão de receptores Toll-like (TLR) 4 em 21 casos de cisto periapical e 10 de granuloma, utilizando amostras cirúrgicas dessas lesões. As amostras foram preparadas para análise de imunohistoquímica e com a utilização de microscópio de luz foi constatada a expressão desses receptores em todos os espécimes, o que sugere que os TLR4 possuem papel fundamental para o surgimento de lesões periapicais durante processos inflamatórios.

Quando os TLR entram em contato com componentes das bactérias ou seus produtos, como o LPS, ocorre a ativação da cascata de sinalização que irá iniciar o processo inflamatório e a reabsorção óssea periapical (Akira et al., 2006; Tang et al., 2011). Um estudo recente sobre reabsorções externas em dentes sugere que os receptores TLR 2 e 4 podem responder à estimulação microbiana e desencadear a secreção de citocinas com ação pró-inflamatória incluindo as associadas com a expressão das proteínas RANK-RANKL-OPG que levam à osteoclastogênese (Lin et al., 2013).

Armada et al. (2015) demonstraram que houve maior expressão de RANK e RANKL no tecido conjuntivo de infiltrado inflamatório crônico em comparação com o infiltrado misto, sabe-se que nos processos crônicos, além de osteoblastos, os fibroblastos e linfócitos T e B expressam maior quantidade de RANKL.

Um estudo de 2018 revelou que as Actinobacterias estão associadas aos granulomas, à maior expressão de metaloproteinase (MMP) -2, menor expressão de OPG e maior relação RANKL: OPG demonstrando o papel desse grupo de microrganismos na destruição óssea e de tecido conjuntivo durante a periodontite apical (Takahama et al., 2018). Além das MMPs, citocinas como IL-6, IL-1 e TNF- α estão associadas à inflamação e quando em níveis elevados durante as infecções endodônticas promovem a reabsorção óssea (Azuma et al.,

2014).

2.2 Medicação Intracanal

O preparo biomecânico (PBM) dos canais radiculares não consegue erradicar os microrganismos presentes na infecção endodôntica (Menezes et al., 2004; Sousa et al., 2014; Valera et al., 2010a). Mesmo sendo o PBM a etapa mais importante, nela é possível eliminar apenas 50-70% dos microrganismos dependendo da sequência clínica e características das substâncias químicas utilizadas (Byström, Sundqvist, 1983, 1981). Portanto, não há garantia de eliminação de microrganismos em uma única sessão de tratamento e o uso de medicação intracanal é indicado a fim de erradicar as bactérias que resistem à primeira etapa do tratamento bem como atuar onde a instrumentação e irrigação não alcançam (Reit, Dahlén, 1988).

2.2.1 Hidróxido de Cálcio

O hidróxido de cálcio foi utilizado a primeira vez na endodontia em 1920 com Hermann (Hermann, 1920), desde então é pesquisado e é considerado o padrão ouro de medicações intracanaís devido às suas atividades antimicrobiana, de dissolução de matéria orgânica, estimuladora do reparo de lesões e de neutralização de endotoxinas, como alguns estudos têm demonstrado.

Byström et al. (1985) selecionou 65 pacientes com necessidade de tratamento endodôntico em dentes unirradiculares e com presença de lesão periapical. Durante o tratamento destes, foram utilizadas como medicação intracanal o hidróxido de cálcio, o fenol canforado e o paramonoclorofenol. Realizou-se um teste capaz de detectar um pequeno número de bactérias com a finalidade de avaliar o efeito bactericida dessas medicações. Após o tratamento, nos canais em que foi utilizada a pasta de hidróxido de cálcio (Calasept), as bactérias foram recuperadas apenas em 1 dos 35 canais radiculares tratados e após o uso do fenol canforado e paramonoclorofenol as bactérias foram recuperadas de 10 dos 30 canais tratados. Sendo assim, os resultados indicaram que o tratamento endodôntico pode ser realizado em duas sessões quando a pasta de hidróxido de cálcio é usada como medicação.

O LPS bacteriano, como dito anteriormente, leva à formação da lesão periapical e esta molécula é liberada das bactérias mesmo após a sua morte, portanto o uso de uma medicação intracanal bactericida não é suficiente. O hidróxido de cálcio é capaz de neutralizar endotoxinas, sendo, assim, seu uso indicado como curativo entre sessões de tratamento (Silva et al., 2002) já que possui a capacidade de hidrolisar o lipídio A do LPS bacteriano inativando-o (Safavi, Nichols, 1993).

Com relação à sua ação sobre citocinas, em 2015 um estudo clínico avaliou diferentes formulações de medicações, sendo elas, a clorexidina (CHX) gel 2%, o Ca(OH)_2 com solução salina (SSL) e Ca(OH)_2 com CHX gel 2% (n = 10) na estimulação das citocinas do tipo Th1 e Th2 além de avaliação da redução do número de bactérias do canal. Foram coletadas amostras bacterianas dos canais radiculares e do líquido intersticial das lesões. Esse estudo demonstrou que todos os protocolos de medicação intracanal foram eficazes em reduzir a carga bacteriana dos canais radiculares e reduzir os níveis de citocinas do tipo Th1 em lesões apicais, os protocolos de tratamento com Ca(OH)_2

aumentaram significativamente os níveis de citocinas do tipo Th2 e a medicação com CLX pura apresentou menor eficácia no aumento dos níveis de citocina do tipo Th2 (Martinho et al., 2015). Outros estudos também demonstraram a eficácia do hidróxido de cálcio na redução de citocinas pró-inflamatórias ou impedindo que estas aumentem durante o tratamento endodôntico (Martinho et al., 2018; Tavares et al., 2012). Isso pode estar ligado à capacidade do hidróxido de cálcio de neutralizar as endotoxinas dos canais radiculares (Rabello et al., 2017; Xavier et al., 2013).

Quanto à sua ação na dissolução de tecido necrótico, Hasselgren et al. (1988) compararam o hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2) e o hipoclorito de sódio (NaOCl), ao colocar pedaços de tecido muscular suíno necrótico em solução de NaOCl 0,5% (solução de Dakin), Ca(OH)_2 , misturado com água, ou solução NaOCl após pré-tratamento com Ca(OH)_2 por vários intervalos de tempo. Os resultados deste estudo demonstraram que os pedaços de tecido colocados em NaOCl a 0,5% não haviam se dissolvido completamente após um período de 12 dias, entretanto quando foi realizada a troca da solução a cada meia hora, o tecido foi completamente dissolvido após 3 h. As peças que foram colocadas em Ca(OH)_2 apresentaram edema acentuado e consistência gelatinosa e após 12 dias, o tecido estava completamente dissolvido. As peças pré-tratadas com Ca(OH)_2 por 30 min se dissolveram em NaOCl em 90 min, e por fim, as peças que foram pré-tratadas durante 24 h ou 7 dias dissolveram-se em 60 min. A partir disso eles concluíram que aparentemente o tratamento a longo prazo com Ca(OH)_2 pode dissolver o tecido necrótico e o pré-tratamento com Ca(OH)_2 pode aumentar o efeito de dissolução do NaOCl . Portanto a ação do hidróxido de cálcio na dissolução de tecido é dependente do tempo que essa substância permanece em contato com os restos necróticos do canal radicular, quando em contato por alguns min, o hidróxido de cálcio não exerce nenhum tipo de ação sobre a matéria orgânica (Türkün, Cengiz, 1997).

Um estudo de 2014 avaliou a capacidade do hidróxido de cálcio em reduzir a lesão periapical atuando no sistema RANK-RANKL-OPG, porém esta ação ainda não está clara. Utilizou-se microcápsulas de Ca(OH)_2 , Ca(OH)_2 em pó e Vitapex como medicação intracanal. No grupo em que foram utilizadas as microcápsulas houve aumento da expressão de OPG, entretanto esse aumento não foi observado na expressão de RANKL em comparação com o pó de Ca(OH)_2 puro e Vitapex. Gerando, assim, um aumento na relação OPG / RANKL e provavelmente inibição da atividade dos osteoclastos, o autor ainda discute que esse resultado está relacionado à liberação controlada de hidróxido de cálcio na forma de microcápsula, uma vez que o pó de hidróxido de cálcio estimula a atividade osteoclástica. Portanto sua ação no reparo da lesão periapical está relacionada à forma com que essa medicação é empregada e disponibilizada nos tecidos (Han et al., 2014).

2.2.2 N-acetil cisteína

A N-acetil cisteína (NAC) é uma substância que vem sendo estudada em diversas áreas da saúde, entre elas, como auxiliar no tratamento da depressão, em tratamento de lesões cerebrais, tratamento de pacientes fumantes e ação hepatoprotetora, apresentando resultados positivos em todas elas (Eakin et al., 2014; Fernandes et al., 2016; Maheswari et al., 2014; Valdivieso et al., 2018). Seus mecanismos de ação ocorrem através da interação com várias vias bioquímicas, sendo o principal ser precursor da cisteína e reabastecer os níveis celulares de glutathione (GSH) (antioxidante), portanto, possui ação antioxidante reagindo com radicais altamente oxidativos como, OH, NO_2 e CO_3 . Sabe-se que durante o processo inflamatório há liberação de radicais livres que quando em

grandes quantidades causam danos teciduais, sendo assim, a NAC repõe a GSH durante o processo inflamatório aumentando a defesa antioxidante (Vajdovich, 2008). Além disso, NAC regula o ciclo celular e apoptose incluindo a inibição da proliferação de células humanas normais de mamíferos e também de células alteradas, tem ação imuno-moduladora, anti-mutagênica e antineoplásica, que incluem o bloqueio de metabólitos eletrofílicos e de compostos de ação direta, de fonte endógena ou exógena, atenuação de várias vias de metabolização de xenobióticos e proteção de mutações de enzimas nucleares dependentes de DNA. Também é usada para tratamento de transtornos psiquiátricos principalmente porque muitos distúrbios neuropsiquiátricos têm uma etiologia multifatorial que envolve vias inflamatórias, estresse oxidativo, metabolismo da GSH, função mitocondrial, neurotrofinas e apoptose (Samuni et al., 2013). Com relação à segurança de seu uso em humanos, não houveram efeitos colaterais durante a terapia com essa substância (Weidenbach et al., 2003), e são recomendadas doses diárias de no mínimo 600 mg e máxima de 1800 mg (Martínez, Banaclocha, 2012).

Dentro da odontologia há poucos estudos com o uso da NAC. Lee et al. (2013) avaliaram o uso dessa substância em implantes, com o intuito de favorecer a osteointegração e diminuir o tempo de cicatrização dos mesmos. Para isso foi examinada a viabilidade de implantes de nanotubos impregnados com NAC que liberavam a droga após instalação *in vivo* e *in vitro*. *In vitro*, foi observado que os implantes que continham NAC na superfície provocaram aumento da viabilidade celular e resposta inflamatória com redução do estresse oxidativo, diminuição da secreção das citocinas e de formação de ROS, além disso, foi possível perceber que a NAC favorece a atividade de osteoblastos por ter ação antioxidante e assim melhora a osteointegração. *In vivo* a avaliação por microtomografia computadorizada (μ -CT) revelou um aumento do volume ósseo neoformado e da densidade mineral óssea nas mandíbulas de ratos Sprague

Dawley. Histologicamente osso novo e relativamente bem formado foi identificado em contato próximo com a superfície do implante de NLN-Ti por coloração HE. Portanto além de atuar no processo inflamatório, NAC tem potencial de modular a neoformação óssea.

NAC também foi utilizada para avaliar a perda óssea em periodontite experimental em ratos diabéticos. Num estudo de 2012 foram utilizados 60 ratos divididos em 6 grupos, grupo sem ligadura (NL); grupo somente ligadura (L); grupo somente estreptozotocina (STZ); grupo STZ e ligadura (STZ + L), grupo STZ + L com administração sistêmica de NAC (70 mg / kg de peso corporal por dia, respectivamente) (NAC70) e grupo STZ + L com administração sistêmica de NAC 100 mg/kg (NAC100). A diabetes mellitus foi induzido com 60 mg/kg de estreptozotocina. Após um período de 30 dias os ratos sofreram eutanásia e as alterações no nível ósseo foram avaliadas clínica e histologicamente. A perda óssea alveolar foi significativamente maior no grupo STZ + L em comparação com os outros grupos. Além disso, a perda óssea alveolar em todos os grupos NAC foi significativamente menor do que nos grupos STZ + L e L. A atividade osteoblástica no grupo NAC100 foi significativamente maior do que nos outros grupos. O que permitiu concluir que o NAC pode prevenir a perda óssea alveolar em modelo de ratos diabéticos (Toker et al., 2012).

Quanto a sua ação bactericida, a medicação foi testada isolada contra *Enterococcus faecalis* apresentando excelentes resultados na eliminação dessas bactérias nas formas planctônica e de biofilme (Quah et al., 2012), em uma associação com clorexidina gel 2% demonstrou ação sinérgica com resultados biologicamente significativos e melhores do que o uso sozinho (Palaniswamy et al., 2016). Hasna (2018) realizou estudo in vitro utilizando a NAC como medicação intracanal e comparou com o hidróxido de cálcio e terapia fotodinâmica (PDT). Para isso, 80 dentes extraídos foram padronizados e

montados em placa de 24 poços, houve contaminação das raízes por *E. faecalis* durante 21 dias e as placas foram divididas em 5 grupos de acordo com a medicação ou tratamento antimicrobiano em PDT+NAC, NAC, PDT, Ca(OH)_2 + Solução salina. Os grupos foram avaliados por cultura microbiológica (UFC/mL), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e por microscopia confocal de varredura a LASER. A análise microbiológica (UFC/mL) não apresentou diferença estatística entre os grupos PDT+NAC, NAC e Ca(OH)_2 . A análise ilustrativa por MEV mostrou resultados semelhantes à análise microbiológica (UFC/mL) e na microscopia confocal de varredura a LASER, todos os grupos avaliados foram efetivos contra *E. faecalis*, com diferença significativa do grupo controle. Pode-se então concluir que a NAC pode eliminar *E. faecalis* e é uma alternativa como medicação intracanal.

Além da ação antimicrobiana, a NAC foi testada quanto à ação anti-inflamatória através do teste PCR que avaliou a inibição de citocinas $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-6, IL-8 e IL-10 em macrófagos THP-1 ativados por LPS sob condições oxidativas leves. Como resultado obteve-se que a N-acetil cisteína inibe as citocinas $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$ e IL-6 (Palacio et al., 2011).

Portanto a NAC tem grande potencial para uso como medicação intracanal durante o tratamento endodôntico.

2.3 Mediadores lipídicos

2.3.1 Resolvinas

As resolvinas estão sendo estudadas devido ao seu potencial no tratamento de doenças inflamatórias. Um estudo de 2017 avaliou a ação dessas

citocinas anti-inflamatórias e pró-resolvedoras através da comparação de seus efeitos *in vitro*, e na resolução de lesões *in vivo* em ratos. Como resultado *in vitro* pode-se observar que no experimento de Transwell as resolvinas dificultaram a migração de neutrófilos, em especial a resolvina E1 (RvE1) que apresentou resultados melhores. Durante o experimento *in vivo* foi criada uma ferida no dorso de ratos que foram tratadas topicamente com resolvinas e novamente as que foram tratadas com RvE1 apresentaram cicatrização em menor tempo do que os demais grupos. Na análise histológica o grupo tratado com RvE1 apresentou uma organização e reepitelização mais madura (Menon et al., 2017).

Croasdell et al. (2015) averiguaram o efeito das resolvinas da série D em macrófagos humanos após expor as células a um extrato de fumaça de cigarro. Nas células tratadas houve a supressão significativa de citocinas pró-inflamatórias, enzimas e mediadores lipídicos, além do aumento da produção de citocinas anti-inflamatórias e reparo das lesões induzidas pela fumaça do cigarro.

Em odontologia ainda existem poucos estudos que utilizam esses mediadores, sendo a maioria da área de periodontia. Mustafa et al. (2013) se propuseram a determinar o impacto da resolvina D1 na função de fibroblastos do ligamento periodontal, para tanto cultivaram células primárias de indivíduos saudáveis, as células do ligamento e monócitos foram tratadas com 0,1-10 ng / ml RvD1 (0,27-27 M). Essa quantidade foi capaz de reduzir a produção de PGE 2 induzida por citocinas e a RvD1 aumentou significativamente a proliferação de fibroblastos e o fechamento da ferida, bem como a liberação do fator de crescimento de fibroblastos.

Outro estudo na área de periodontia objetivou utilizar a resolvina E1 no tratamento de periodontite induzida por ligadura em ratos. Foi observada diminuição da perda óssea e da densidade de osteoclastos. Além disso, o

infiltrado inflamatório nos grupos RvE1 foram menores do que no grupo placebo. O tratamento também reduziu a expressão de genes relacionados à inflamação e a avaliação da microbiota subgengival de ratos revelou mudanças marcantes em ambos os experimentos de prevenção e tratamento sugerindo que a modulação da inflamação local tem um papel importante na formação da composição da microbiota subgengival (Lee et al., 2016).

Em estudo com exposição da polpa dentária de molares de ratos tratados com corticóide tópico ou RvE1, o tratamento com RvE1 levou a uma redução da celularidade do tecido e da extensão inflamatória, sendo que as alterações desse grupo não foram diferentes das polpas do grupo controle, por fim esse estudo concluiu que a RvE1 tem papel protetor mesmo quando há contaminação do tecido pulpar, sendo indicada para tratamento conservador da polpa. (Dondoni et al., 2014), Em outro estudo com ratos a RvE1 foi capaz de promover a redução inflamatória periapical e formação radicular (Scarparo et al., 2014).

2.3.2 Lipoxinas

As lipoxinas (Lx) são moléculas pró-resolvedoras naturais produzidas a partir de ácidos graxos endógenos. Derivados do ácido araquidônico, as lipoxinas têm ações anti-inflamatórias e de resolução potentes (Samuelsson et al., 1987; Serhan et al., 2000, 1995). As LxA4 e B4 foram as primeiras isoladas e identificadas como inibidoras da infiltração de neutrófilos e estimuladoras do recrutamento de macrófagos (Bannenberg et al., 2004; Maddox et al., 1998). Três vias principais de síntese de Lxs foram identificadas, na primeira via, em tecidos de mucosas humanas, tais como no trato gastrointestinal, vias aéreas e na cavidade oral, a oxigenação sequencial de ácido araquidônico pela 15-lipoxigenase e 5-lipoxigenase, seguido por hidrólise enzimática, conduzem à

produção de LxA4 B4 (Levy et al., 2001). Na segunda via, em vasos sanguíneos, a 5-lipoxigenase biossintetiza a lipoxina A4, e a 12-lipoxigenase das plaquetas produz a lipoxina B4. A LxA4 regula as funções celulares através da ativação de receptores específicos; estes receptores são expressos por neutrófilos e monócitos. Uma terceira via da síntese é desencadeada pela aspirina. A aspirina promove a acetilação da ciclooxigenase-2, resultando em uma alteração na atividade da ciclooxigenase-2 que passa a produzir 15R-HETE, leucócitos 5-LOX convertem este produto em 15-epi-LXA4 que são denominados lipoxinas desencadeadas pela aspirina. As células que expressam a ciclooxigenase-2 incluem células endoteliais vasculares, células epiteliais, macrófagos e neutrófilos. Além da síntese de lipoxinas, a aspirina também bloqueia a síntese de prostaglandinas por acetilação da ciclooxigenase-2, inibindo a inflamação (Serhan et al., 2008).

Börjeson et al. (2011) tiveram por objetivo determinar o efeito da Lipoxina A4 (LxA4) sobre *P. gingivalis* induzida através de neutrófilos e plaquetas e o possível envolvimento de Rho GTPases e CD11b / CD18 integrinas. Como resultado, sugeriu-se que a LXA 4 antagoniza *P. gingivalis* induzida por ativação celular de um modo que é dependente da interação de leucócitos-plaquetas, provavelmente através da inibição de Rho GTPase e da sinalização e regulação negativa de CD11b / CD18.

Tarannum e Faizuddin (2017) avaliaram a associação da LxA4 e da IL-12 na periodontite crônica, para isso utilizaram 45 pacientes com a doença e 45 saudáveis (grupo controle). Foi realizado periograma e coleta de amostras do fluido gengival para análise de IL-12 e LxA4. Como resultado foi observada menor quantidade de LxA4 nos pacientes com doença periodontal crônica em comparação com o grupo controle, com correlação negativa entre LxA4 e IL-12 nos dois grupos. Correlação negativa foi encontrada entre perda de inserção clínica e lipoxina A4, e correlação positiva entre perda de inserção clínica e

interleucina-12. No entanto estas foram estatisticamente insignificantes. Portanto a concentração média de IL - 12 foi significativamente maior no fluido gengival de pacientes com periodontite do que em pacientes saudáveis, e a concentração média de lipoxina A4 foi menor em pacientes com periodontite do que em pacientes saudáveis. Acredita-se que a LxA4 tenha um efeito inibitório sobre a IL-12.

Pode haver impacto nos níveis de LxA4 em pacientes tabagistas com periodontite crônica (PC), para avaliar isso, Tarannum e Faizuddin (2017) selecionaram 122 pacientes divididos em fumantes com PC, fumantes com gengivite, fumantes periodontalmente saudáveis não fumantes com periodontite agressiva generalizada, não fumantes com periodontite crônica, não fumantes com gengivite e não fumantes classificados como periodontalmente saudáveis. O índice gengival, o índice de placa, a profundidade da bolsa de sondagem e o nível clínico de inserção foram registrados e os níveis de IL-8 e LxA4 do fluido gengival foram analisados. Concluiu-se que os aumentos observados de IL-8 no fluido gengival e diminuição em reflete alterações nas respostas imunes e inflamatórias que ocorrem como um resultado do consumo de cigarros.

A lipoxina tem indicação para ser utilizada em regeneração tecidual apresentando redução significativa do infiltrado inflamatório em locais com doença periodontal crônica tratados cirurgicamente, aumento da neoformação óssea e regeneração do órgão periodontal (Van Dyke et al., 2015).

Cianci et al. (2016) utilizaram células tronco e investigaram a ação destas na apoptose de polimorfonucleares e em funções antimicrobianas, e também determinaram o impacto de LXA 4 nas células tronco. Ao final foi possível concluir que as células-tronco reduziram significativamente a apoptose e estimularam a atividade antimicrobiana de polimorfonucleares humanos, através de interações célula-célula e mecanismos parácrinos. As células tronco

são capazes de sintetizar mediadores lipídicos pró-resolvedores, incluindo a resolvina D1, D2, D5 e D6, protectina D1, maresinas e LxB 4, prostaglandinas D 2, E 2, e F 2 α . A LxA 4 aumentou significativamente a proliferação, a migração e a capacidade de cicatrização de feridas por células tronco sendo que estas modulam as funções de polimorfonucleares e geram mediadores lipídicos pró-resolvedores e a LXA 4.

3 PROPOSIÇÃO

Avaliar o efeito da terapia endodôntica com uso de diferentes medicação à base Ca(OH)_2 e N-acetil cisteína na estimulação de mediadores lipídicos RvE1, RvD2 e LxA4 presentes no fluido periapical nas infecções endodônticas primárias.

Investigar a atividade antimicrobiana de diferentes medicações intracanal à base de Ca(OH)_2 e N-acetil cisteína na redução microbiana do canal radicular após o preparo biomecânico com instrumento único reciprocante em dentes com infecção endodôntica primária e lesão periapical.

Avaliar a atividade da medicação a base de Ca(OH)_2 e N-acetil cisteína utilizadas após o preparo biomecânico com instrumento único reciprocante em dentes com infecção endodôntica primária e lesão periapical na redução de endotoxinas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Instituto de Ciência de Tecnologia de São José dos Campos (ICT-SJC) – UNESP sob-registro 2.292.674 (ANEXO A) e foi publicado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC) sob o número de registro RBR-4mrrhh (ANEXO B).

4.1 Procedimentos Experimentais

4.1.1 Seleção dos Pacientes

Foram triados 154 pacientes, dos quais 47 com idade adulta e necessidade de tratamento endodôntico foram selecionados e atendidos na clínica do curso de Odontologia do Instituto de Ciências e Tecnologia de São José dos Campos (SP) - UNESP, Brasil. Dos pacientes selecionados, 6 não compareceram na segunda sessão de tratamento e foram excluídos. Todos os pacientes voluntários assinaram um termo de consentimento informado (APÊNDICE A).

Para maior padronização da amostra todos os dentes selecionados eram permanentes, com infecção endodôntica primária, unirradiculares, com presença de um único canal e lesão periapical comprovados radiograficamente (Figura 1). Foram excluídos pacientes com presença de bolsa periodontal maior do que 4 mm, dentes que não puderam ser isolados com o dique de borracha, com fratura

radicular ou exposição da câmara pulpar, pacientes que fizeram uso de antibióticos ou antifúngicos nos últimos 3 meses ou que apresentavam doença sistêmica.

Para todos os pacientes foi realizada anamnese completa (APÊNDICE B) e o diagnóstico de necrose pulpar foi confirmado pela resposta negativa ao teste frio (sensibilidade negativa), além dos testes para verificar dor à percussão, à palpação e mobilidade.

Figura 1 – Radiografia de dente com necrose pulpar e lesão periapical com indicação para tratamento endodôntico



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.1.2 Divisão dos grupos experimentais

Para a divisão dos grupos, foi realizada randomização de acordo com o Consort 2010 - Consolidated Standards of Reporting Trials (Schulz, 2010), a partir do sorteio de papéis com o tipo de tratamento a ser executado antes do

procedimento.

- (1) Grupo Ca(OH)_2 : Medicação - Ca(OH)_2 + Soro Fisiológico (n= 14);
- (2) Grupo NAC : Medicação – N- acetil- cisteína + Soro Fisiológico (n=14);
- (3) Grupo Ca(OH)_2 + CLX: Medicação – Ca(OH)_2 + Clorexidina gel 2% (n=13).

4.1.3 Intervenções odontológicas

Todas as limas endodônticas, instrumentos odontológicos e outros materiais utilizados nesse estudo foram esterilizados com radiação gama Co60 pelo Ipen (Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, SP, Brasil) para completa eliminação de endotoxinas pré-existentes. Os dentes foram isolados com dique de borracha e lavados com soro fisiológico, em seguida foi feita uma barreira física de resina fotopolimerizável (Top Dam – FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil) (Figura 2a). A coroa e estruturas adjacentes foram submetidas a profilaxia com pasta profilática (Vigodent S/A Indústria e Comércio, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e escova de Robinson (Microdont – Micro Usinagem de Precisão Ltda, São Paulo, SP, Brasil) (Figura 2b) e desinfetadas com swabs (Jiangsu Medical Materials Co. Ltda, Jiangsu, China) estéreis umedecidos em água oxigenada (H_2O_2) 30% (Byofórmula, São José dos Campos, SP, Brasil), seguido por NaOCl 5.25%. Para evitar contaminação química do canal radicular com essa solução e a interferência com a cultura microbiológica, realizou-se a neutralização do NaOCl com o tiosulfato de sódio 5% (Byofórmula, São José dos Campos, SP, Brasil) (Figura 2c). A esterilidade das superfícies externas da coroa foi confirmada com o

auxílio de um swab que foi colocado em contato com o ágar-sangue presente nas placas de cultura, que foram incubadas em ambiente aeróbio e anaeróbio.

Figura 2 – Imagens ilustrativas da intervenção endodôntica: a- realização de barreira de resina, b- profilaxia com pasta profilática e c- desinfecção do campo operatório e coroa dental

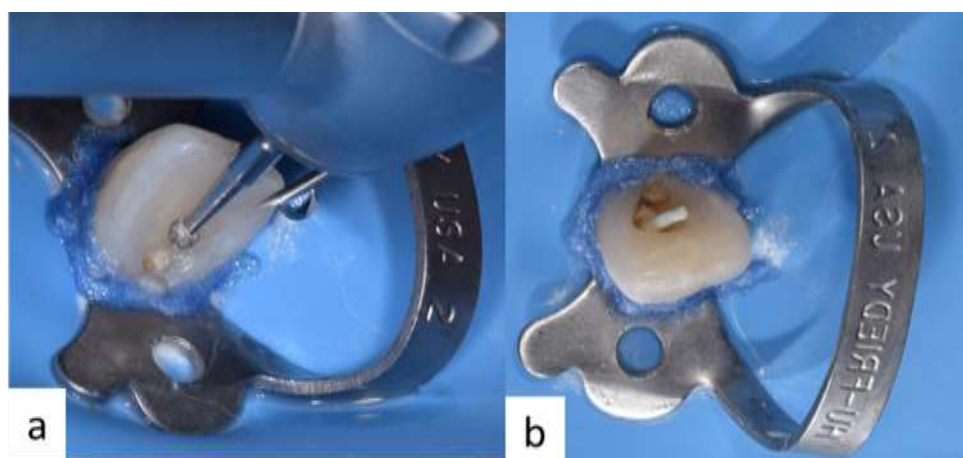


Fonte: Elaborado pelo autor.

A abertura coronária foi realizada sob irrigação manual com solução salina estéril e apirogênica usando uma broca diamantada em alta velocidade (Figura 3a). A primeira etapa foi realizada para promover uma maior remoção de contaminantes, incluindo lesões cariosas e restaurações. Na segunda fase, antes de entrar na câmara pulpar, a cavidade de acesso foi desinfetada de acordo com o protocolo descrito anteriormente. A esterilidade da superfície interna da cavidade de acesso foi verificada como descrito anteriormente, e todos os procedimentos foram realizados em condições assépticas. Uma primeira coleta do conteúdo do canal foi feita através da introdução de 4 cones de papel estéreis/apirogênicos (#15; Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) no

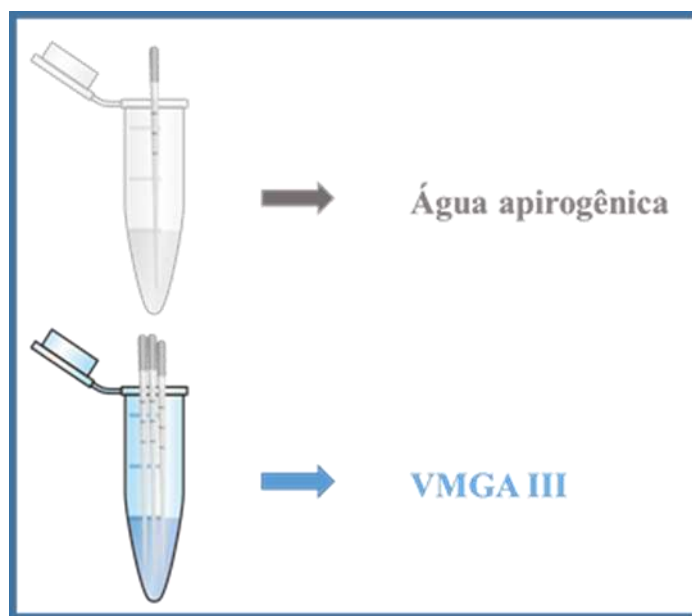
comprimento aparente do dente, determinado radiograficamente, e mantido em posição por 60 segundos (Figura 4). Imediatamente depois, o primeiro cone de papel foi colocado em um microtubo estéril e suspenso em 1 mL de água apirogênica para posterior dosagem de endotoxina (CE1) usando o ensaio de Limulus Amebocyte Lysate (LAL) cinético-cromogênico (Lonza, Walkersville, MD) (Figura 3b). Este procedimento foi repetido com os demais 3 cones de papel que foram armazenados em outro microtubo estéril contendo 1 mL de meio de transporte VMGA III para o cultivo microbiano (CM1).

Figura 3 - Imagens ilustrativas da intervenção endodôntica: a- abertura coronária e b- coletas do canal



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 4 - Microtubos com as coletas para análise de endotoxina e microbiológica, 1 cone armazenado em 1ml de água apirogênica e 3 cones em 1 ml de VMGAIII



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.1.4 Preparo biomecânico

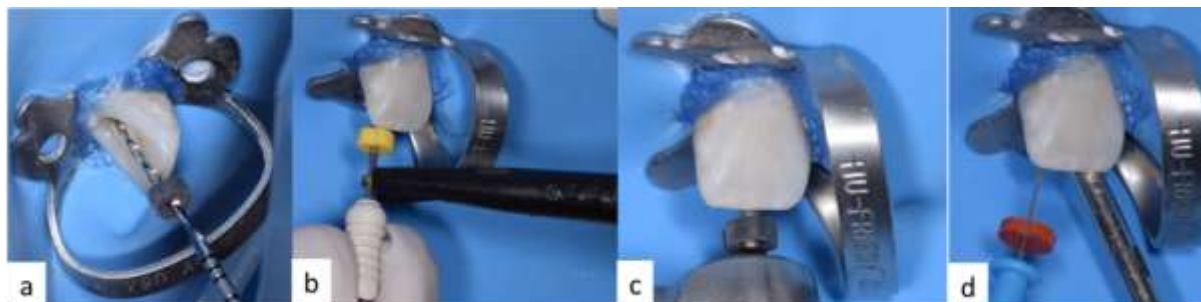
Após a coleta das primeiras amostras para análise de endotoxinas (CE1) e microbiológica (CM1), os canais foram preparados com limas Reciproc® R40 (VDW, Munique, Alemanha); as limas foram adaptadas em motor elétrico (VDW, Munique- Alemanha) seguindo as recomendações do fabricante, instrumentando-se os canais inicialmente nos terços cervical e médio e irrigando-se o canal com 8 ml de NaOCl 2,5% a cada terço do canal instrumentado (Figura 5a). Após, o comprimento do canal radicular foi confirmado com o auxílio de um localizador foraminal (RomiApex A15-

Romidan; Qiryat Ono Israel) e o comprimento de trabalho foi definido em 1mm aquém do ápice (Figura 5b), seguido do preparo do terço apical (Figura 5c). A irrigação foi realizada com seringas e agulhas 30G (Navi-tips, Ultradent, Indaiatuba - SP, Brasil). Durante o preparo, a patência do canal foi verificada após a irrigação, com lima manual #15, ultrapassando 1 mm do comprimento real do dente. Ao final da instrumentação, o canal foi irrigado com 10 ml de NaOCl 2,5%, seguido de irrigação com 5 mL de tiosulfato de sódio 0,5% durante 1 min para inativação do NaOCl e este último foi removido do canal com irrigação com 10 mL de solução salina estéril (Figura 5d). A segunda coleta do conteúdo do canal (CE2 e CM2) foi realizada de acordo com a descrita anteriormente.

Em seguida um instrumento K#30 foi introduzido no canal, ultrapassando 1 mm além do comprimento real para ampliação do forame apical, permitindo assim a inserção de cones de papel para coleta do fluido intersticial (CFI1) da lesão periapical. O cone permaneceu por 60 segundos em posição, sendo em seguida armazenado em eppendorf contendo 2 mL de solução tampão (PBS – tampão fosfato salino), 0,1% de solução Tween 20 e 1 µl de coquetel de inibidores de protease. Dois cones foram utilizados para a coleta das amostras, e foram armazenados a -20°C para posterior quantificação de marcadores imunológicos (RvE1, RvD2, LxA4) por ELISA (R&D Systems, Minneapolis, Minnesota, EUA).

Ao final da coleta microbiológica os canais foram inundados com EDTA 17% por 5 mins, seguido de uma irrigação final com 10 mL de solução salina estéril e apirogênica. Os canais foram secos com cones de papel estéreis e os pacientes foram divididos aleatoriamente em 3 grupos de acordo com a medicação.

Figura 5 - Imagens ilustrativas da intervenção endodôntica: a- início da instrumentação, b- odontometria, c- finalização da instrumentação e d- irrigação final

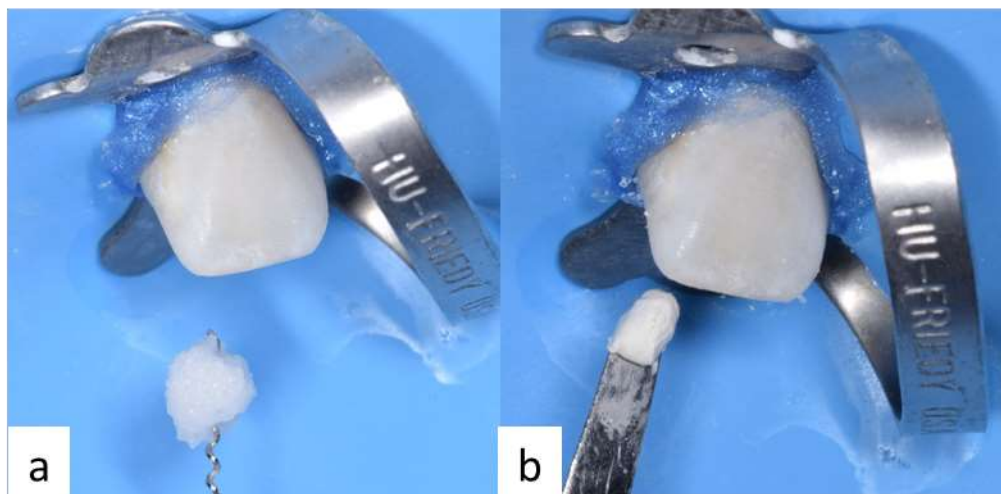


Fonte: Elaborado pelo autor.

4.1.5 Medicação intracanal

Para o grupo Ca(OH)_2 foi preparada uma pasta de Ca(OH)_2 + soro fisiológico na proporção 1:1 em volume que foi levada ao canal radicular com o auxílio de lentulo apirogênico até o completo preenchimento do canal; para o grupo NAC foi preparada uma pasta de NAC + soro fisiológico nas proporções de 1g/ml que foi levada ao canal radicular com o auxílio de lentulo apirogênico até o completo preenchimento do canal e para o grupo Ca(OH)_2 + CLX foi preparada uma pasta de hidróxido de cálcio com clorexidina na proporção 1:1 em volume que foi levada ao canal radicular com o auxílio de lentulo até o completo preenchimento do canal (Figura 6a). Em seguida, os dentes foram selados com uma camada de Coltosol (Figura 6b) (Vigodent, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e restaurados provisoriamente com cimento de ionômero de vidro (S.S. White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, RJ, Brasil).

Figura 6 - Imagens ilustrativas da intervenção endodôntica: a- colocação da medicação, b- selamento



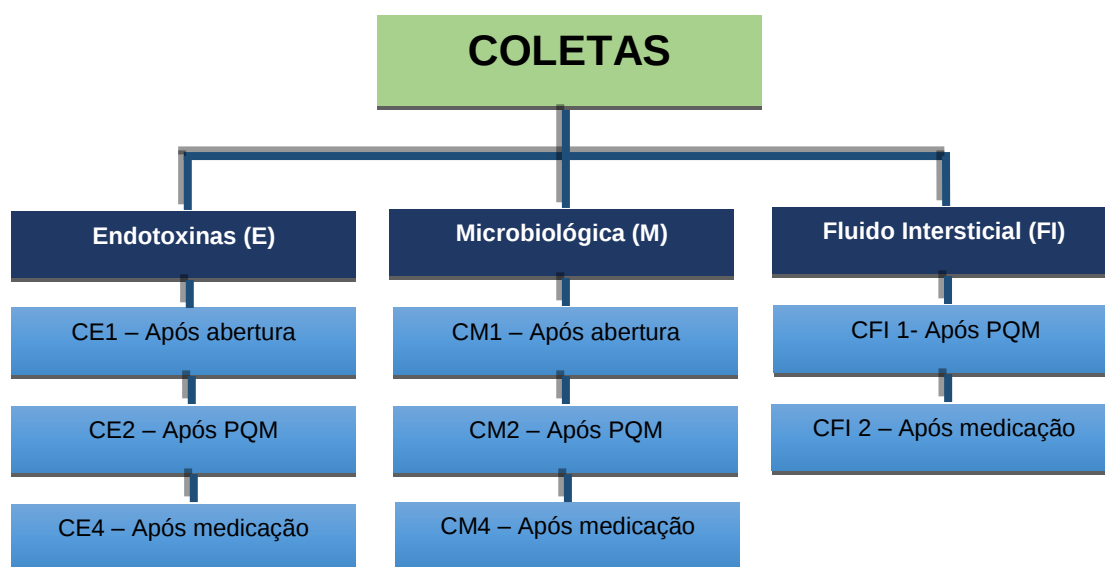
Fonte: Elaborado pelo autor.

4.1.6 Segunda sessão e obturação

Quatorze dias após o primeiro atendimento e colocação da medicação intracanal, os dentes foram isolados com dique de borracha, os campos cirúrgicos desinfetados como descrito anteriormente, e a restauração provisória removida. A medicação intracanal foi removida com limas e irrigação com 10 mL de solução salina, e novas coletas do conteúdo do canal foram realizadas (CE3 e CM3). Para coleta do fluido intersticial após a medicação (CFI2) foi realizada nova instrumentação com lima #30, ultrapassando-se 1 mm o comprimento real do dente e então foram feitas coletas da mesma maneira descrita anteriormente, para detecção de resolvina e lipoxina. Os dentes foram então preenchidos com solução de EDTA 17% durante 5 min e lavados com 10 mL de solução salina fisiológica apirogênica. Os casos em que houve ausência de dor, de odor e os

canais apresentaram-se secos foram obturados com cones de guta-percha (Dentsply Maillefer Ind. Com. Ltda. Petrópolis, RJ, Brasil) e cimento obturador AH Plus (Dentsply DeTrey GmbH, Konstanz). Em seguida, os dentes foram radiografados para comprovação de adequado preenchimento em lateralidade da obturação do canal radicular. A figura 7 apresenta a sequência de coletas que foram realizadas durante os atendimentos.

Figura 7 - Fluxograma demonstrativo dos diferentes tempos das coletas de endotoxinas, microbiológicas e do fluido intersticial nos grupos experimentais

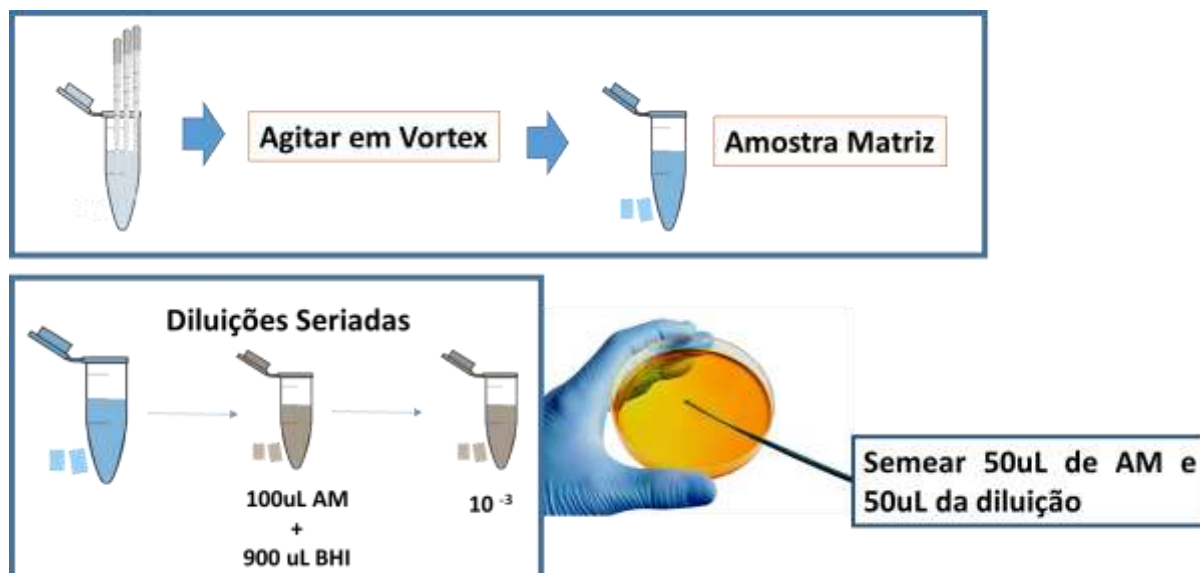


Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2 Análise Antimicrobiana – Unidades formadoras de colônia (UFC/mL)

Para todas as coletas, a atividade antimicrobiana foi avaliada pela contagem de unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL) de microrganismos remanescentes no canal radicular. Os microtubos com os 3 cones de papel (amostra matriz), armazenados em 1 mL de meio de transporte pré-reduzido VMGA III, foram agitados até a dessorção do conteúdo para facilitar a dispersão dos microrganismos. Em seguida, foram realizadas diluições seriadas transferindo 100 μ L da amostra matriz para a diluição 10^{-1} e assim consecutivamente até a diluição 10^{-3} em microtubos (1,5 mL) contendo 900 μ L de Caldo Infuso Cérebro Coração (BHI) (Brain Heart Infusion Broth – HiMedia Laboratories Pvt. Ltda, Mubai, Índia) (Figura 8). Em seguida, foram semeados 50 μ L da amostra matriz (sem diluição) e 50 μ L da diluição 10^{-3} em placas de Petri (Interlab - São Paulo, SP, Brasil) contendo Fastidious Anaerobe Agar (FAA) (Neogen Corporation, Michigan, USA), acrescido de 5% de sangue de carneiro desfibrinado suplementados com hemina (5 mg/L) e vitamina K1 (1 mg/L). Essas placas foram incubadas em jarra de anaerobiose a 37°C por 14 dias, para a detecção de microrganismos anaeróbios e facultativos. O número de unidades formadoras de colônias (UFCs) foi determinado a partir da contagem do número de colônias nas placas analisadas levando em consideração a diluição das amostras para obtenção do cálculo final de UFCs.

Figura 8 - Manejo das amostras microbiológicas para semeadura, diluições seriadas até 10^{-3}



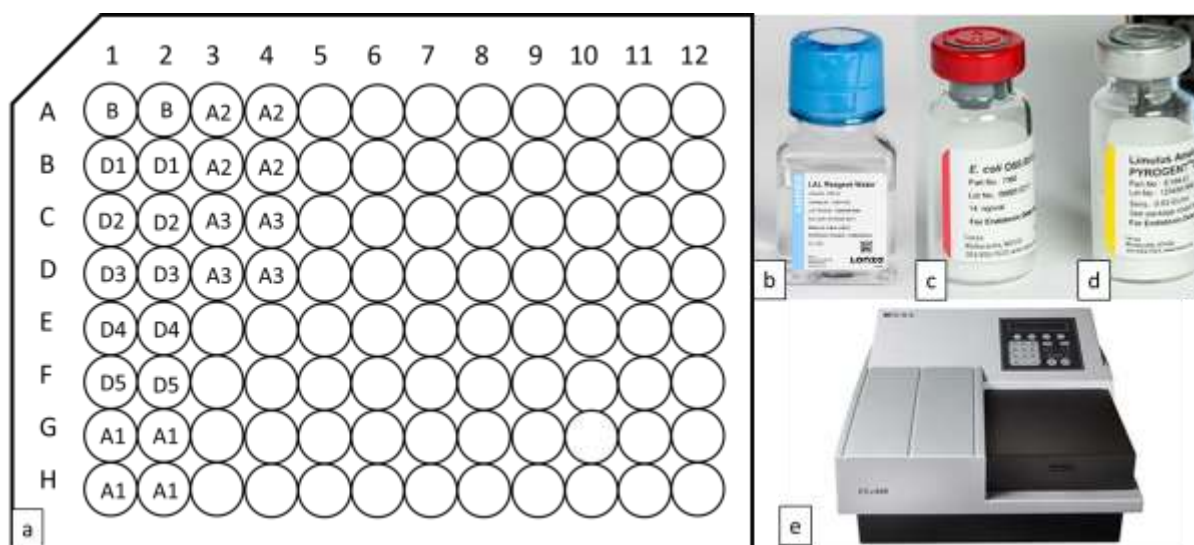
Legenda: AM – amostra matriz

4.3 Quantificação de Endotoxinas (LPS) pelo Ensaio Cinético Cromogênico de Lisado de Amebócitos de Limulus (LAL)

O ensaio cinético-cromogênico de LAL (Cinético QCL-LAL) (Lonza, Walkersville, MD, EUA) foi utilizado para quantificação das endotoxinas. A endotoxina de *Escherichia coli* foi a padrão para esta análise. O controle positivo (amostra do canal radicular contaminado com uma quantidade conhecida de endotoxina) foi incluído para cada amostra para determinar a presença ou ausência de agentes que interfiram. Para o teste, foram utilizados 100 µL: de água apirogênica, 4 soluções padrão de endotoxinas (0,005 – 50 unidades de endotoxina (UE/mL), amostras dos canais radiculares e controles positivos (cada canal radicular contaminado com uma quantidade conhecida de endotoxina). Foram adicionados às placas apirogênicas de 96 poços 100 µL de

água apirogênica (branco da reação), os padrões de endotoxina, as amostras dos canais radiculares e os controles positivos (Figura 9). Os testes foram realizados em quadruplicata. A placa foi então incubada a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 10 min em um leitor cinético-QCL, que foi acoplado a um microcomputador pelo software WinKQCL (Lonza, Walkersville, MD, EUA). Em seguida, 100 μL de reagente cromogênico foi adicionado a cada poço. Após o início do teste cinético, o software apresentou a absorbância a 405 nm em cada poço das placas e calculou a correlação linear (log/log) entre o tempo de reação de cada solução e a concentração correspondente de endotoxina.

Figura 9 - Materiais utilizados para quantificação de endotoxinas



Legenda: a – placa de 96 poços: B é o branco da reação, D1 a D5 padrão de endotoxinas e A as amostras em quadruplicata; b- água reagente; c- endotoxina padrão de *E. coli*, d- reagente cinético cromogênico, e- leitor cinético QCL.

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.4 Quantificação dos Mediadores Lipídicos pelo Ensaio Imunoenzimático (ELISA)

Após as coletas do fluido intersticial (CFI1 e CFI2), as amostras foram agitadas por 30 min, centrifugadas a 3.000 rpm por 15 min, e divididas em alíquotas para a quantificação dos mediadores lipídicos por meio de ensaio imunoenzimático (ELISA- enzyme linked immunisorbent assay). Os mediadores lipídicos avaliados foram RvE1 (MyBioSource, San Diego, CA, USA), RvD2 (MyBioSource, San Diego, CA, USA), e LxA4 (Wuhan Fine Biotech Co., Ltd., Wuhan, China). Todos os reagentes foram levados à temperatura ambiente e a solução diluente foi acionada em cada poço contendo o anticorpo monoclonal específico para cada marcador a ser quantificado. A curva padrão foi feita com os padrões fornecidos no kit pelo fabricante. A quantificação foi feita em duplicata, e revelada com solução contendo substrato cromogênico e peróxido de hidrogênio, e as densidades ópticas (DO) foram lidas em leitor de placas para ELISA, com comprimento de onda de 450 nm.

Durante o teste ELISA, o anticorpo de um antígeno particular é adsorvido no poço da placa. Depois, o antígeno é adicionado e se liga ao anticorpo. Um segundo e diferente anticorpo ligado à enzima é adicionado. Na sequência, é adicionada a estreptavidina conjugada a peroxidase, que irá se ligar na biotina do anticorpo secundário e a porção peroxidase ficará exposta para reagir com o substrato cromogênico. É então adicionado o substrato cromogênico [(solução A (H₂O₂) + Solução B (Tetrametilbenzodina – TMB)], no qual, a H₂O₂ é quebrada pela peroxidase em H₂O + ½ O₂. Por sua vez, o O₂ age sobre o TMB, mudando de incolor para cor azul. Finalmente é adicionada uma solução de parada (2 N H₂SO₄), tornando a reação amarela, e permitindo a mensuração da

quantidade de antígeno presente na amostra, de acordo com a intensidade da cor amarela lida em espectrofotômetro, numa densidade óptica (DO) de 450 nm.

4.5 Análise estatística

Os dados obtidos referentes aos níveis de endotoxinas, mediadores lipídicos e micro-organismos, foram digitados em planilha Excel e analisados pelo software GraphPad Prism 6.01 (GraphPad Software, LLC CA). Foram realizados os testes de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e Lilliefors, a fim de possibilitar a visualização e distribuição dos dados. Para comparar a efetividade dos tratamentos com diferentes medicações intracanaís referente a carga microbiana e níveis de endotoxinas, os testes Kruskal-Wallis e Dunn foram utilizados na comparação inter-grupo e os testes de Friedman e Dunn na comparação intra-grupo. Para avaliar o efeito das medicações sobre Resolvina E1 e Lipoxina A4 foram utilizados os testes Anova one-way e Tukey na comparação inter-grupo e o teste T pareado para comparação intra-grupo, e para comparar o efeito sobre a Resolvina D2 foram utilizados o Kruskal-Wallis e Dunn na comparação inter-grupo e Friedman e Dunn na comparação intra-grupo. O nível de significância para todos os testes foi de 5% ($P < 0.05$).

5 RESULTADO

5.1 Análise da efetividade do tratamento endodôntico

5.1.1 Avaliação da atividade antimicrobiana para microrganismos aeróbios e anaeróbios.

A presença de micro-organismos foi avaliada pelo método de cultura microbiológica, no qual verificou-se crescimento de bactérias aeróbias em 73,2% (30/41) e 92,7% (38/41) de bactérias anaeróbias nas amostras coletadas dos canais radiculares após abertura coronária. Na tabela 1 é possível verificar a quantidade de amostras em que houve presença dos microrganismos aeróbios e anaeróbios, assim como a mediana e range (intervalo de variação: quantidade mínima e máxima encontradas) das amostras.

Tabela 1 - Porcentagem das amostras com bactérias aeróbias e anaeróbias. Mediana e range de UFC/mL nos grupos Ca(OH)₂ + CLX, NAC e Ca(OH)₂

Coletas		Aeróbios			Anaeróbios		
		Grupos					
		Ca(OH)2 + soro	NAC	Ca(OH)2 +CLX	Ca(OH)2 + soro	NAC	Ca(OH)2 +CLX
CM1	Casos positivos	(13/14) 92,8%	(11/14) 78,6%	(6/13) 46,1%	(13/14) 92,9%	(13/14) 92,9%	(12/13) 92,3%
	Casos negativos	(1/14) 7,1%	(3/14) 21,4%	(7/13) 53,8%	(1/14) 7,1%	(1/14) 7,1%	(1/13) 7,7%
	Mediana	2180	940	0	10.780	1.800	12.800
	Range	0 - 17.800	0 - 32.800	0 - 11.520	0 - 694.000	0 - 84.400	0 - 44.160
CM2	Casos positivos	(6/14) 42,8%	(1/14) 7,1%	(1/13) 7,7%	(9/14) 64,3%	(8/14) 57,1%	(8/13) 61,5%
	Casos negativos	(8/14) 57,1%	(13/14) 92,8%	(12/13) 92,3%	(5/14) 35,7%	(6/14) 42,9%	(5/13) 38,5%
	Mediana	0	0	0	50	20	20
	Range	0 - 440	0 - 20	0 - 40	0 - 30.080	0 - 3.200	0 - 2.720
CM3	Casos positivos	(10/14) 71,4%	(9/14) 64,3%	(6/13) 46,1%	(11/14) 78,6%	(13/14) 92,9%	(6/13) 46,1%
	Casos negativos	(4/14) 28,6%	(5/14) 35,7%	(7/13) 53,8%	(3/14) 21,4%	(1/14) 7,1%	(7/13) 53,9%
	Mediana	240	450	0	300	1980	0
	Range	0 - 33.920	0 - 32.000	0 - 12.320	0 - 7.840	0 - 33.400	0 - 4.480

Fonte: Elaborado pelo autor.

Após o preparo biomecânico com Reciproc e NaOCl 2,5% houve uma redução significativa do número de UFC/mL de aeróbios, sendo a média desta redução de 93,4% para o grupo Ca(OH)₂, 97% para o grupo NAC e 97,6% para o grupo Ca(OH)₂ + CLX. Houve diferença estatística entre a coleta inicial e a coleta após PBM nos grupos NAC e Ca(OH)₂, porém não houve diferença estatística na comparação inter grupos (Tabela 2). A redução de UFC/mL de anaeróbios e facultativos após o PBM também foi estatisticamente significativa quando comparada à coleta inicial, sendo de 95,3% para o grupo Ca(OH)₂, 91% para o grupo NAC e 91,28% para o grupo Ca(OH)₂ + CLX, sem apresentar diferença estatística na comparação entre os grupos (Tabela 3). Não foi observado crescimento microbiano pelo método de cultura em 33 dos 41 (80,5%) dentes após instrumentação e irrigação dos canais para microrganismos aeróbios e 16 dos 41 (39%) para microrganismos anaeróbios.

Tabela 2 – Mediana do número de microrganismos aeróbios e anaeróbios em cada grupo comparando-se a segunda coleta (CM2) em relação à primeira coleta e comparando-se os grupos avaliados.

Grupos		Aeróbios		Anaeróbios	
		Coletas			
		CM1	CM2	CM1	CM2
Ca(OH)2	Mediana	2180	0	10.780	50
	Range	0 - 17.800	0 - 440	0 - 694.000	0 - 30.080
	Letras	Aa	Aab	Aa	Ab
NAC	Mediana	940	0	1.800	20
	Range	0 - 32.800	0 - 20	0 - 84.400	0 - 3.200
	Letras	Aa	Ab	Aa	Ab
Ca(OH)2 +CLX	Mediana	0	0	12.800	20
	Range	0 - 11.520	0 - 40	0 - 44.160	0 - 2.720
	Letras	Aa	Aa	Aa	Ab

*Letras maiúsculas indicam diferença entre as colunas (inter-grupos) e letras minúsculas indicam diferença entre linhas (intra-grupos).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Após 14 dias de medicação não foi observado crescimento de bactérias aeróbias pelo método de cultura microbiológica em 4 das 14 coletas (21,4%) no grupo Ca(OH)₂, 5 das 14 (35,7%) coletas no grupo NAC e 7 das 13 coletas (53,4%) do grupo Ca(OH)₂ + CLX. Ao comparar os resultados da terceira coleta (CM3) com a primeira, não houve diferença estatística entre essas coletas para os três grupos (Tabela 3). Para os microrganismos anaeróbios e facultativos não houve crescimento de bactérias em 3 das 14 amostras (13,33%) no grupo Ca(OH)₂, 1 das 14 (10%) amostras no grupo NAC e 7 das 13 (53,8%) amostras do grupo Ca(OH)₂ + CLX. Encontrou-se diferença estatística entre os grupos Ca(OH)₂ + CLX e NAC para a CM3 (Tabela 3). Em relação à porcentagem de redução das bactérias anaeróbias, esta foi de 91,15% no grupo Ca(OH)₂, de 59% para o grupo NAC e de 94,9% no grupo Ca(OH)₂ + CLX. Na comparação da

CM2 com a CM3, foi constatada diferença somente para o grupo NAC com relação às bactérias anaeróbias e facultativas, que apresentaram crescimento em relação à segunda coleta (Tabela 4).

Tabela 3 - Mediana do número de microrganismos aeróbios e anaeróbios em cada grupo comparando-se a terceira coleta (CM3) em relação à primeira coleta e comparando-se os grupos avaliados

Grupos		Aeróbios Coletas		Anaeróbios Coletas	
		CM1	CM3	CM1	CM3
Ca(OH) ₂	Mediana	2180	240	10.780	300
	Range	0 - 17.800	0 - 33.920	0 - 694.000	0 - 7.840
	Letras	Aa	Aa	Aa	Aa
NAC	Mediana	940	450	1.800	1980
	Range	0 - 32.800	0 - 32.000	0 - 84.400	0 - 33.400
	Letras	Aa	Aa	Aa	Ba
Ca(OH) ₂ +CLX	Mediana	0	0	12.800	0
	Range	0 - 11.520	0 - 12.320	0 - 44.160	0 - 4.480
	Letras	Aa	Aa	Aa	ABb

*Letras maiúsculas indicam diferença entre as colunas (inter-grupos) e letras minúsculas indicam diferença nas linhas (intra-grupos).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 4 – Mediana do número de microrganismos aeróbios e anaeróbios em cada grupo comparando-se a CM3 e a CM2

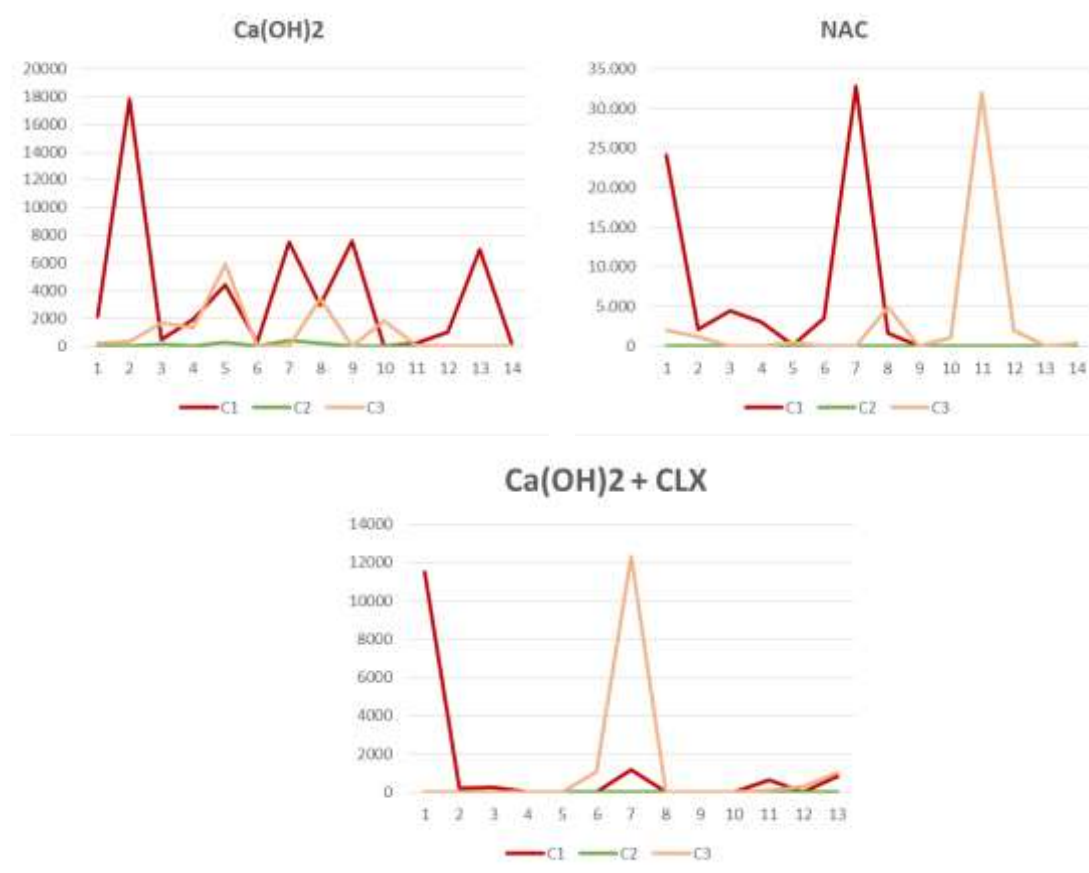
Grupos		Aeróbios		Anaeróbios	
		Coletas			
		CM2	CM3	CM2	CM3
Ca(OH)2 + soro	Mediana	0	240	50	300
	Range	0 - 440	0 - 33.920	0 - 30.080	0 - 7.840
	Letras	A	B	A	A
NAC	Mediana	0	450	20	1980
	Range	0 - 20	0 - 32.000	0 - 3.200	0 - 33.400
	Letras	A	B	A	B
Ca(OH)2 +CLX	Mediana	0	0	20	0
	Range	0 - 40	0 - 12.320	0 - 2.720	0 - 4.480
	Letras	A	A	A	A

*Letras minúsculas indicam diferença nas linhas (intra-grupos).

Fonte: Elaborado pelo autor.

As figuras 10 e 11 demonstram através de gráficos a variabilidade da presença de microrganismos aeróbios e anaeróbios respectivamente, ao longo do tratamento.

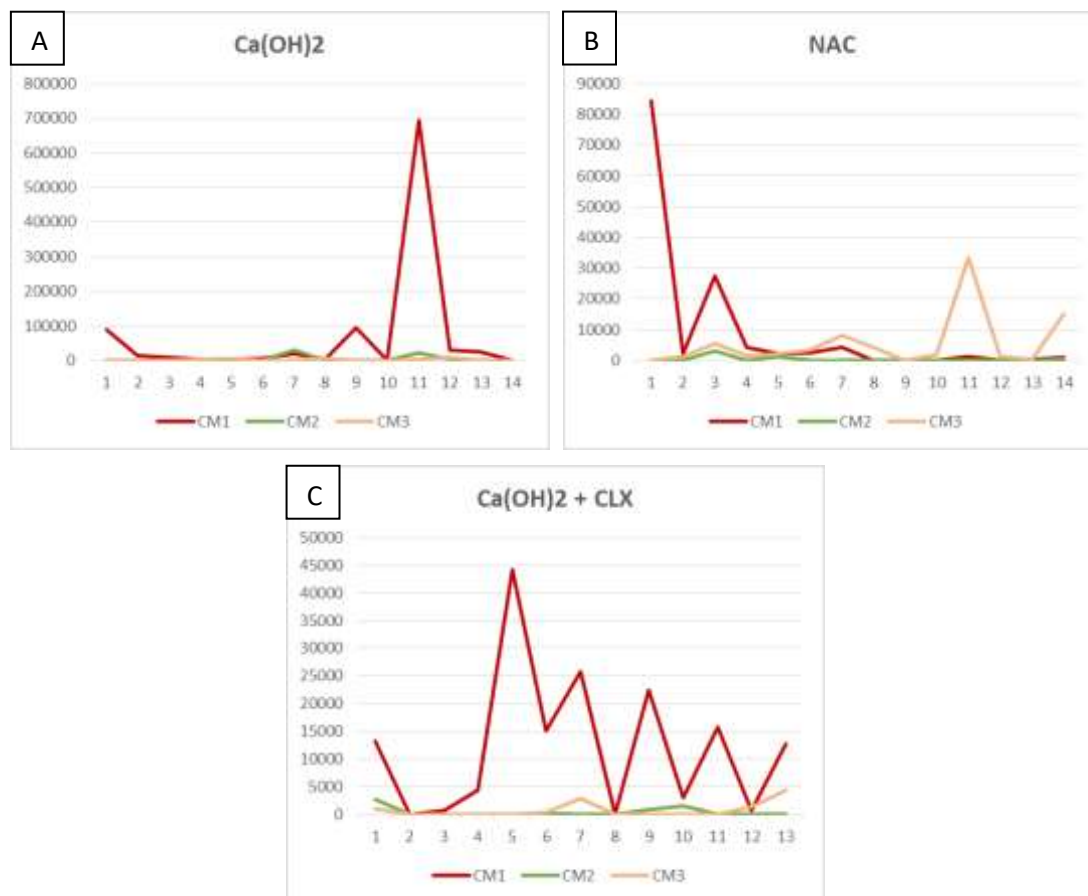
Figura 10 - Representação gráfica da quantidade de microrganismos em UFC/mL durante o tratamento endodôntico para microrganismos aeróbios



Legenda: gráficos A – quantidade de microrganismos aeróbios em cada coleta realizada, C1, C2 e C3, de cada paciente atendido no grupo Ca(OH)2, B – quantidade de microrganismos aeróbios em cada coleta realizada, C1, C2 e C3, de cada paciente atendido no grupo NAC, C – quantidade de microrganismos aeróbios em cada coleta realizada, C1, C2 e C3, de cada paciente atendido no grupo Ca(OH)2 + CLX.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 11 - Representação gráfica da quantidade de microrganismos em UFC/mL durante o tratamento endodôntico para microrganismos anaeróbios¹



Legenda: gráficos A – quantidade de microrganismos anaeróbios em cada coleta realizada, C1, C2 e C3, de cada paciente atendido no grupo Ca(OH)₂, B – quantidade de microrganismos anaeróbios em cada coleta realizada, C1, C2 e C3, de cada paciente atendido no grupo NAC, C – quantidade de microrganismos anaeróbios em cada coleta realizada, C1, C2 e C3, de cada paciente atendido no grupo Ca(OH)₂ + CLX.

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.1.2 Análise da redução de endotoxinas dos canais radiculares

Foi possível detectar endotoxina em 100% dos canais na CE1 (41/41). O preparo biomecânico com Reciproc + 2,5% NaOCl (CE2) reduziu

significativamente a carga de endotoxinas nos três grupos realizados neste estudo (Tabela 5).

Tabela 5 – Distribuição dos valores endotoxinas em EU/mL encontrada nos diferentes tempos estudados

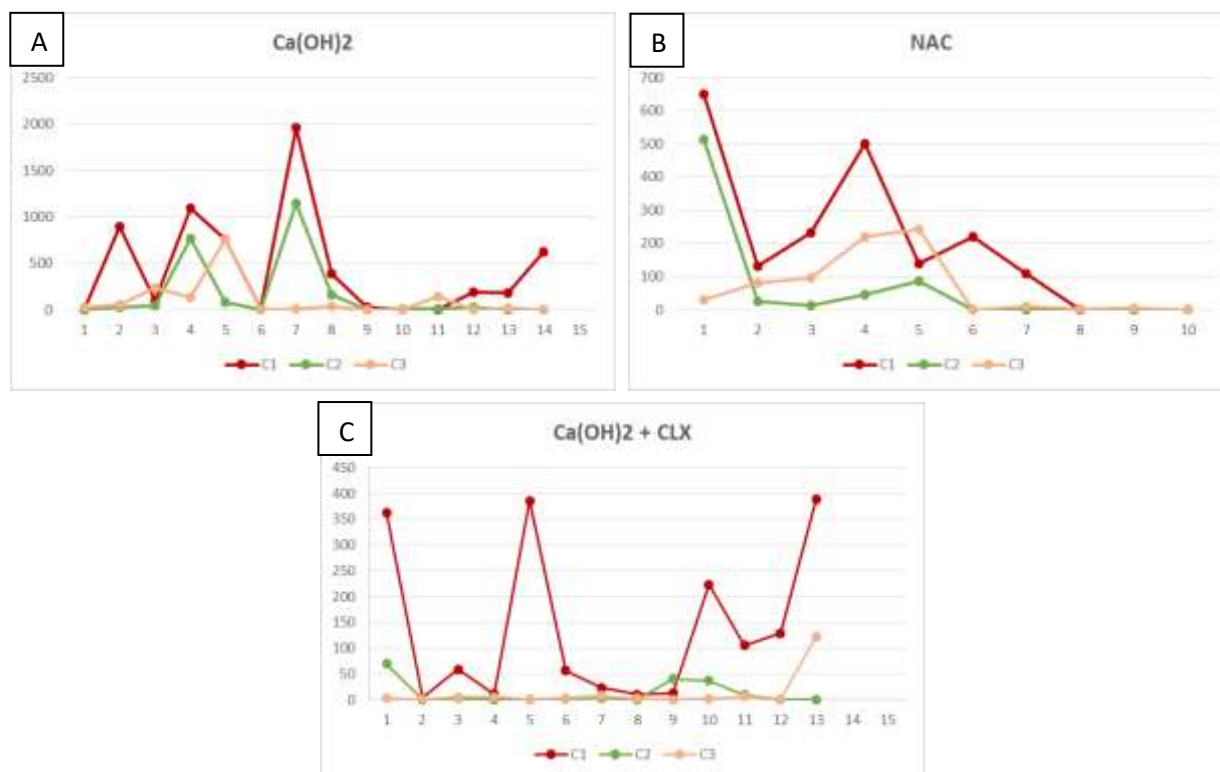
Grupos		Coletas		
		CE1	CE2	CE3
Ca(OH) ₂ + soro	Mediana	183,5	16,01	24,15
	Range	0, 897 - 1960	0,388 - 1143	0,489 - 758
	Letras	Aa	Ab	Aab
NAC	Mediana	134,5	2,555	6,005
	Range	0,0598 - 650	0,0386 - 514	0,0265 - 244
	Letras	Aa	Ab	Aab
Ca(OH) ₂ +CLX	Mediana	59	2,12	3,03
	Range	0,037 - 388	0,108 - 69,3	0,217 - 122
	Letras	Aa	Ab	Ab

*Letras maiúsculas indicam diferença nas as colunas (inter-grupos) e letras minúsculas indicam diferença nas linhas (intra-grupos).

Fonte: Elaborado pelo autor.

A medicação que apresentou melhor resultado quanto à redução de endotoxinas do canal foi a associação de Ca(OH)₂ com a clorexidina. As três medicações utilizadas se mostraram eficientes na redução de endotoxinas do canal. Na figura 12 é possível verificar graficamente essa redução em todos os tempos operatórios do tratamento.

Figura 12 - Representação gráfica da redução de endotoxinas em EU/mL em cada grupo analisado



Legenda: gráficos A – quantidade de endotoxinas em cada coleta realizada, C1, C2 e C3, de cada paciente atendido no grupo Ca(OH)₂, B – quantidade de endotoxinas em cada coleta realizada, C1, C2 e C3, de cada paciente atendido no grupo NAC, C – quantidade de endotoxinas em cada coleta realizada, C1, C2 e C3, de cada paciente atendido no grupo Ca(OH)₂ + CLX.

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.2 Análise da efetividade anti-inflamatória das medicações intracanaais

5.2.1 Avaliação do efeito das medicações sobre os níveis de resolvina E1, D2 e lipoxina A4 do fluido intersticial

RvE1, RvD2 e LxA4 foram detectadas em todas as amostras (41/41). A Tabela 6 mostra a distribuição das medianas individuais e valores de variação

(ng/mL) das citocinas antiinflamatórias encontradas nas amostras do líquido intersticial dos tecidos periapicais antes e após a medicação intracanal. Não foram encontradas diferenças significativas nas concentrações de RvE1, LxA4 e RvD2 na primeira coleta de citocinas (antes do uso da medicação) (Tabela 7). Também não foram encontradas diferenças estatísticas nas concentrações de RvE1, LxA4 após uso das medicações (Tabela 8). Entretanto, a concentração de RvD2 teve aumento após o uso da NAC como medicação intracanal (Figura 13), sendo que as outras medicações reduziram a quantidade dessa citocina após 14 dias de uso (Figura 14).

Tabela 6 - Mediana e range da concentração de RvE1, RvD2 e LxA4 antes e após o uso da medicação nos grupos Ca(OH)_2 , NAC e $\text{Ca(OH)}_2 + \text{CLX}$.

Grupos		Ca(OH)_2 + soro		NAC		$\text{Ca(OH)}_2 + \text{CLX}$	
Coletas		CF1	CF2	CF1	CF2	CF1	CF2
RvE1	Mediana	2,855	2,981	2,418	2,554	2,730	2,782
	Range	1,751 - 3,290	1,178 - 3,562	1,827 - 2,856	1,748 - 2,968	1,988 - 3,155	2,482 - 2,946
RvD2	Mediana	0,06159	0,04211	0,1979	0,4656	0,04823	0,05602
	Range	0,01818 - 1,037	0,01595 - 0,4745	0,02152 - 1,089	0,05936 - 1,68	0,01818 - 1,069	0,03042 - 0,5391
LxA4	Mediana	0,9074	0,9074	0,9069	0,9073	0,9076	0,9074
	Range	0,9054 - 0,9083	0,906 - 0,9082	0,906 - 0,9083	0,9062 - 0,9082	0,906 - 0,9084	0,9059 - 0,9087

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 7 - Comparação das concentrações iniciais dos mediadores lipídicos na CF1

Grupos		Ca(OH)2 + soro	NAC	Ca(OH)2 +CLX
Coletas		CF1	CF1	CF1
RvE1	Mediana	2,855	2,418	2,730
	Range	1,751 - 3,290	1,827 - 2,856	1,988 - 3,155
	Letra	A	A	A
RvD2	Mediana	0,06159	0,1979	0,04823
	Range	0,01818 - 1,037	0,02152 - 1,089	0,01818 - 1,069
	Letra	A	A	A
LxA4	Mediana	0,9074	0,9069	0,9076
	Range	0,9054 - 0,9083	0,906 - 0,9083	0,906 - 0,9084
	Letra	A	A	A

*Letras maiúsculas indicam diferença nas linhas (inter-grupos).

Fonte: Elaborado pelo autor.

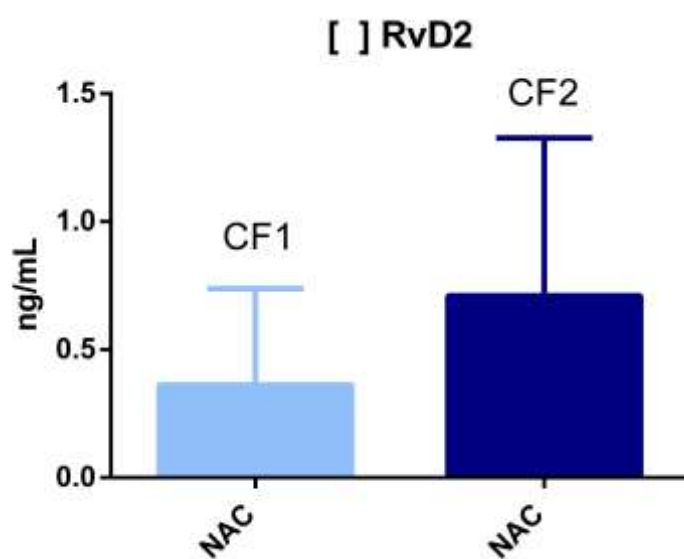
Tabela 8 - Comparação das concentrações após uso das medicações dos mediadores lipídicos

Grupos		Ca(OH)2 + soro	NAC	Ca(OH)2 +CLX
Coletas		CF2	CF2	CF2
RvE1	Mediana	2,981	2,554	2,782
	Range	1,178 - 3,562	1,748 - 2,968	2,482 - 2,946
	Letra	A	A	A
RvD2	Mediana	0,04211	0,4656	0,05602
	Range	0,01595 - 0,4745	0,05936 - 1,68	0,03042 - 0,5391
	Letra	A	B	A
LxA4	Mediana	0,9074	0,9073	0,9074
	Range	0,906 - 0,9082	0,9062 - 0,9082	0,9059 - 0,9087
	Letra	A	A	A

*Letras maiúsculas indicam diferença nas linhas (inter-grupos).

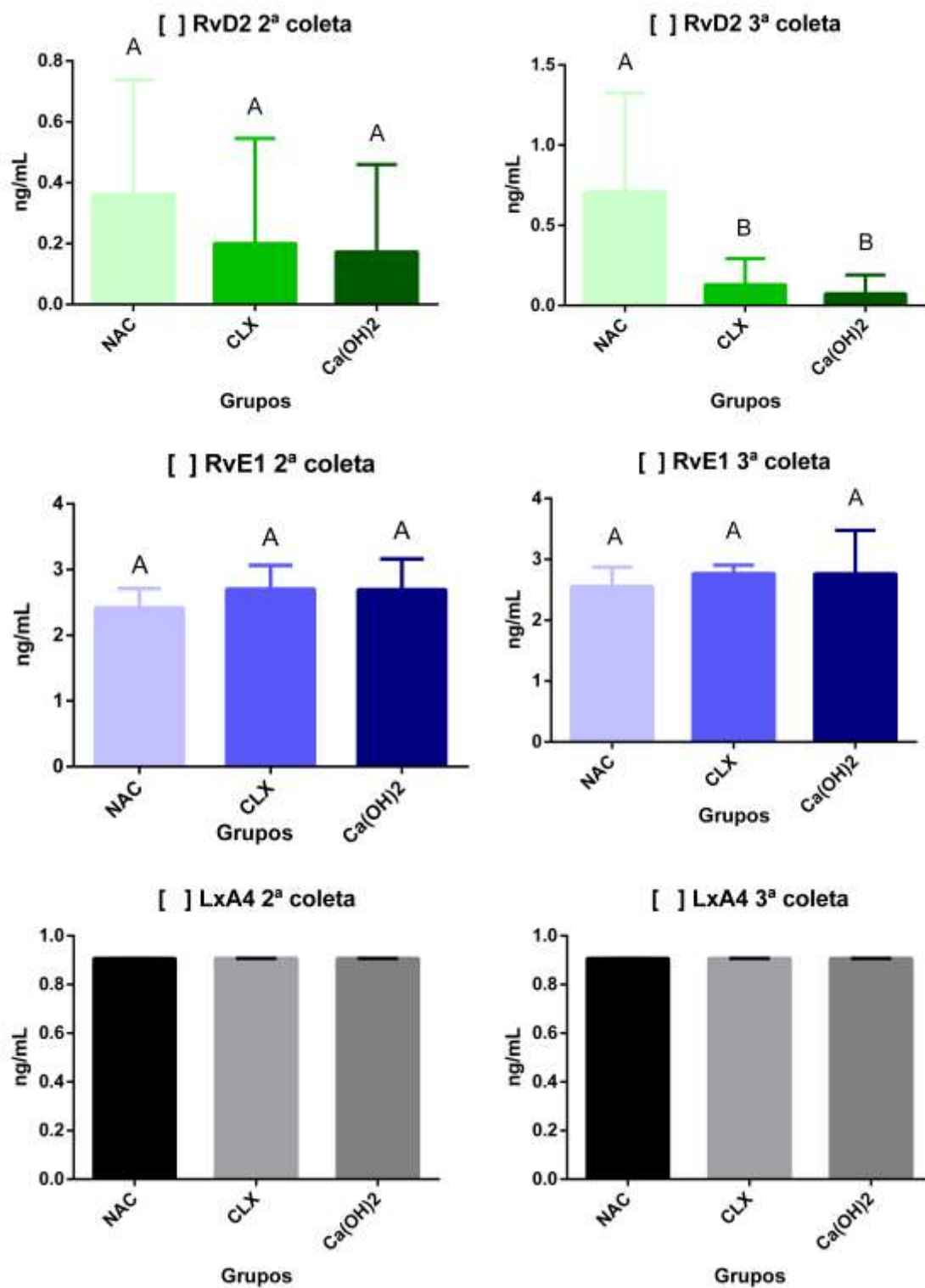
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 13- Concentrações de RvD2 antes e após o uso da NAC



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 14 – Gráficos com as concentrações iniciais e finais de cada mediador lipídico



Fonte: Elaborado pelo autor.

6 DISCUSSÃO

A infecção do canal radicular é a principal causa da periodontite apical (Nair, 1997) e para combater-la utiliza-se soluções irrigadoras com ação antimicrobiana (Haapasalo et al., 2010) e medicação intracanal (Athanasiadis et al., 2007).

O preparo dos canais com o uso de NaOCl é capaz de promover uma redução significativa do número de bactérias (Dal Bello et al., 2018; Rôças et al., 2016; Siqueira et al., 2000) sendo que as concentrações a partir de 1 % são adequadas para a dissolução de tecidos e ação antibacteriana (Baumgartner, Cuenin, 1992).

Durante nosso estudo, associado ao preparo, foi utilizado o NaOCl na concentração de 2,5%, verificou-se redução significativa na carga microbiana total nos dentes avaliados. Um estudo de Siqueira et al., 2000 demonstrou que mesmo em concentrações mais baixas o NaOCl é efetivo, uma vez que o tempo e a troca regular dessas soluções mantém sua efetividade, sendo desnecessário o uso de concentrações muito altas.

Embora o preparo biomecânico tenha reduzido a carga de microrganismos, ainda permaneceu grande quantidade destes no canal radicular. Sendo a medicação intracanal indicada para auxiliar na limpeza e melhorar o índice de sucesso do tratamento (Athanasiadis et al., 2007; Podbielski et al., 2003).

Nosso estudo analisou o efeito de uma nova opção de medicação intracanal, a N-acetil cisteína, comparada ao hidróxido de cálcio, considerado o “gold standard” das medicações intracanaís indicadas atualmente (Ghatole et al., 2016), avaliando suas ações anti-microbiana e de neutralização de endotoxinas e seu efeito na estimulação da liberação dos mediadores lipídicos anti-

inflamatórios RvE1, RvD2 e LxA4 que favorecem o retorno à homeostase.

O hidróxido de cálcio é a medicação mais utilizada atualmente e sua ação antimicrobiana está relacionada ao seu elevado pH, no qual a maioria das bactérias não consegue sobreviver, e também à liberação de íons hidroxila que são altamente oxidantes e provocam danos à membrana celular dos microrganismos, desnaturam proteínas e causam danos ao DNA (Siqueira, Lopes, 1999). Entretanto o hidróxido de cálcio não é efetivo contra todos os tipos de bactérias, existem algumas espécies, como *E. faecalis*, *F. nucleatum ssp. vincentii*, *E. faecium*, entre outras, que resistem à sua ação e permanecem viáveis no sistema de canais radiculares (Ferreira et al., 2015). Portanto é importante escolher uma medicação intracanal eficaz no combate a esses microrganismos resistentes (Gondim et al., 2012).

A fim de melhorar o espectro de ação dessa medicação, é indicada a associação do hidróxido de cálcio com clorexidina gel. No nosso estudo a associação dessas duas substâncias foi mais eficaz, comparado ao grupo em que foi utilizado o hidróxido de cálcio com soro, embora não tenha sido encontrada diferença estatística entre esses dois grupos. No grupo $\text{Ca(OH)}_2 + \text{CLX}$ em 7 das 13 amostras não foram recuperadas bactérias anaeróbias. Já no grupo $\text{Ca(OH)}_2 + \text{soro}$, somente em 3 de 14 não foi observado crescimento de microrganismos anaeróbios. Isso está de acordo com vários estudos anteriores que associaram as duas substâncias e verificaram sua eficácia porém sem diferença estatística significativa comparando-se com o hidróxido de cálcio puro (Ferreira et al., 2015; Gomes et al., 2006; Manzur et al., 2007).

A N-acetil cisteína possui ação bacteriostática, inibindo o crescimento de bactérias Gram positivas e Gram negativas (Parry, Neu, 1977). É provável que sua atividade seja devido à reação do grupo tiol (-SH), potente antioxidante presente na NAC, com proteínas das células bacterianas, ou devido à inibição da utilização de cisteína nas bactérias, uma vez que atua sobre o biofilme

bacteriano levando à ruptura da matriz de exopolissacarídeos (Marchese et al., 2003; Olofsson et al., 2003). Ainda, por conter tiol ocorre o rompimento das ligações dissulfídicas do “muco”, inibindo a formação do biofilme (Olofsson et al., 2003). Moon et al. (2016) utilizando in vitro a NAC como medicação intracanal concluiu que essa substância, tem maior potencial bactericida e de desorganização de biofilme do que o hidróxido de cálcio ou a clorexidina (Moon et al., 2016). Em nosso estudo a NAC não reduziu o número de bactérias do canal após 14 dias de medicação. De acordo com Marchese et al. (2003), NAC fragmenta parcialmente biofilmes pré-formados, mas quando associado a outros antimicrobianos ocorre um notável aumento da atividade antimicrobiana de células sésseis, e aumento da capacidade de ruptura de biofilmes. A maioria dos medicamentos é desprovida de atividade sobre células sésseis, e a atividade na destruição da camada de “muco” envolvendo os verdadeiros biofilmes também é difícil de ser eliminado. Assim, NAC pode ter melhor atuação associado a outros antimicrobianos e sua ação em infecções de longa duração com biofilmes maduros deve ser reavaliada.

A fim de detectar e quantificar endotoxinas, o método utilizado em nosso estudo foi o Teste Cinético Cromogênico de Limulus Amebocyte Lysate (LAL), sendo esse muito sensível, e capazes de detectar pequenas concentrações (Hurley, 1995). Em nossa pesquisa, LPS foi detectado em 100% (41/41) das coletas iniciais; a presença de endotoxinas no sistema de canais radiculares demonstra a importância dessa molécula na formação da lesão periapical (Hong et al., 2004).

O preparo biomecânico foi capaz de reduzir o nível de endotoxinas nos três grupos, em média, em 82,37%, evidenciando a capacidade do preparo associado ao NaOCl na redução dos níveis de LPS.

O hidróxido de cálcio é capaz de neutralizar endotoxinas já que possui a capacidade de hidrolisar o lipídio A do LPS bacteriano inativando-o (Safavi,

Nichols, 1993). O grupo $\text{Ca(OH)}_2 + \text{CLX}$ apresentou o melhor resultado dos três grupos analisados. Isso está de acordo com um estudo de Signoretti et al. (2011) que avaliou a influência da clorexidina gel 2% no pH, liberação de cálcio e capacidade de Ca(OH)_2 de reduzir a endotoxina, concluindo que a CLX não interfere nas propriedades químicas do Ca(OH)_2 e ainda melhora suas propriedades de redução do conteúdo de endotoxinas nos canais.

Não há estudos na literatura que avaliem o efeito da NAC sobre a endotoxinas, somente sobre endotoxemia em que a NAC inibe a liberação de citocinas anti-inflamatórias, ou seja, NAC tem ações benéficas em lesões induzidas por LPS (Hsu et al., 2006; Zhang et al., 1994). Talvez a ação de inibição sobre polissacarídeos de membrana tenha efeito também sobre os lipopolissacarídeos, uma vez que a NAC reduz a produção de polissacarídeos extracelulares mesmo quando há crescimento bacteriano (Olofsson et al., 2003). O mesmo foi observado em nossa pesquisa após o uso da NAC como medicação, houve aumento do número de UFC/mL após 14 dias de medicação entretanto houve redução de endotoxinas na coleta após o mesmo período. Em nosso estudo, não houve diferença estatística na redução de endotoxinas quando comparamos a ação das três medicações.

Quanto à ação sobre as citocinas anti-inflamatórias, as medicações à base de Ca(OH)_2 e NAC não alteraram a liberação de RvE1 e LxA4, sendo que nos grupos Ca(OH)_2 e $\text{Ca(OH)}_2 + \text{CLX}$ houve diminuição da liberação de RvD2. Já a medicação com N-acetil cisteína aumentou a liberação de RvD2, isso foi um resultado bastante importante uma vez que as lesões periapicais são lesões inflamatórias crônicas, e portanto são resultado do fracasso da resposta inflamatória ou da ativação contínua desta resposta tornando-se prejudicial para o tecido (Cekici et al., 2014). A RvD2 diminui a carga microbiana local e sistêmica, a produção excessiva de citocinas e o recrutamento de neutrófilos, enquanto aumenta as células mononucleares e a fagocitose macrofágica (Spite et

al., 2009), além disso, RvD2 aumenta a geração de espécies reativas de oxigênio fagossômicas intracelulares para morte microbiana, sendo considerado um imuno resolvente (Spite et al., 2009). Ainda, Chiang et al. (2017) verificaram, em camundongos, que RvD2 protege os animais da sepse bacteriana, melhorando a sobrevivência. Isso demonstra o grande potencial da NAC para uso como medicação intracanal. Não observamos relatos na literatura sobre o efeito da NAC na liberação de resolvinas, entretanto, já foi relatada sua ação na inibição de citocinas pró-inflamatórias e estimulação de citocinas anti-inflamatórias como a IL-10 (Hsu et al., 2006). A resolvina E1 já foi utilizada anteriormente em tratamentos endodôntico cujos resultados foram promissores no que diz respeito ao tratamento conservador da polpa e no tratamento de dentes com ápice incompleto (Dondoni et al., 2014; Scarparo et al., 2014).

As lipoxinas são mediadores lipídicos que derivam do ácido araquidônico ou da aspirina (Serhan et al., 2007) possuem a capacidade de inibir a infiltração de polimorfonucleares e estimula o recrutamento de macrófagos (Bannenberg et al., 2004). Além disso, tem indicação para ser utilizada em regeneração tecidual apresentando redução significativa do infiltrado inflamatório em locais com doença periodontal crônica tratados cirurgicamente, aumento da neoformação óssea e regeneração do órgão periodontal (Van Dyke et al., 2015).

A partir destes resultados pudemos observar que ainda não há uma medicação ideal. Porém, mesmo a NAC não tendo demonstrado um resultado anti-microbiano satisfatório, acreditamos que seu uso associado a outras medicações possa apresentar vantagens, pois além de sua ação sobre biofilmes bacterianos essa substância melhorou o perfil inflamatório, favorecendo o reparo periapical. Também os mediadores inflamatórios são uma opção em tratamentos

endodônticos, sendo que mais estudos com aplicação clínica dessas substâncias são necessários.

7 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que:

- O preparo biomecânico reduziu significativamente o número de bactérias e a quantidade de endotoxinas do canal, e as medicações à base de hidróxido foram eficientes na eliminação de microrganismos do canal, entretanto NAC não foi eficaz para a redução da carga microbiana;
- As três medicações avaliadas foram capazes de atuar no LPS bacteriano;
- Quanto ao retorno à homeostasia, somente a NAC foi capaz de influenciar positivamente esse resultado com o aumento de RvD2 pós 14 dias da medicação;
- Os mediadores lipídicos têm grande potencial para uso nos diversos tipos de tratamento endodôntico, sendo que mais estudos devem ser realizados para viabilizar sua aplicação clínica, bem como mais estudos devem ser realizados utilizando NAC na resolução das periapicopatias.

REFERÊNCIAS*

Aderem A, Ulevitch R. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature*. 2000;406(6797):782–7. doi: 10.1038/35021228. PMID: 10963608.

Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*. 2006;124(4):783–801. doi: 10.1016/j.cell.2006.02.015. PMID: 16497588.

Arita M, Yoshida M, Hong S, Tjonahen E, Glickman JN, Petasis NA, et al. Resolvin E1, an endogenous lipid mediator derived from omega-3 eicosapentaenoic acid, protects against 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis. *Proc Natl Acad Sci*. 2005;102(21):7671–6. doi: 10.1073/pnas.0409271102. PMID: 15890784.

Armada L, Marotta PDS, Pires FR, Siqueira JF. Expression and Distribution of Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B, Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B Ligand, and Osteoprotegerin in Periradicular Cysts. *J Endod*. 2015;41(8):1281–7. doi: 10.1016/j.joen.2015.03.025. PMID: 25956608.

Athanassiadis B, Abbott P V, Walsh LJ. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. *Aust Dent J*. 2007;52(1 Suppl):S64-82. doi: 10.1111/j.1834-7819.2007.tb00527.x. PMID: 17546863.

Azuma MM, Samuel RO, Gomes-Filho JE, Dezan-Junior E, Cintra LTA. The role of IL-6 on apical periodontitis: a systematic review. *Int Endod J*. 2014;47(7):615–21. doi: 10.1111/iej.12196. PMID: 24224782.

Baldwin AS. The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights. *Annu Rev Immunol*. 1996;14:649–83. doi: 10.1146/annurev.immunol.14.1.649. PMID: 8717528.

Baldwin AS. The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights. *Annu Rev Immunol*. 1996;14(1):649–81. doi: 10.1146/annurev.immunol.14.1.649. PMID: 8717528.

Bannenberg G, Moussignac R-L, Gronert K, Devchand PR, Schmidt BA, Guilford WJ, et al. Lipoxins and novel 15-epi-lipoxin analogs display potent anti-inflammatory actions after oral administration. *Br J Pharmacol*. 2004;143(1):43–52. doi: 10.1038/sj.bjp.0705912. PMID: 15302682.

* Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [atualizado 04 nov 2015; acesso em 25 jun 2017]. U.S. National Library of Medicine; [about 6 p.]. Disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Bannenberg GL, Chiang N, Ariel A, Arita M, Tjonahen E, Gotlinger KH, et al. Molecular Circuits of Resolution: Formation and Actions of Resolvins and Protectins. *J Immunol*. 2005;174(7):4345–55. doi: 10.4049/jimmunol.174.7.4345. PMID: 15778399.

Basrani B, Lemonie C. Chlorhexidine gluconate. *Aust Endod J*. 2005;31(2):48–52. doi: 10.1111/j.1747-4477.2005.tb00221.x. PMID: 16128251.

Baumgartner JC, Cuenin PR. Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation. *J Endod*. 1992. doi: 10.1016/S0099-2399(06)81331-2. PMID: 1298800.

Börjeson E, Lönn J, Bergström I, Brodin VP, Ramström S, Nayeri F, et al. Lipoxin A 4 inhibits *Porphyromonas gingivalis*-induced aggregation and reactive oxygen species production by modulating neutrophil-platelet interaction and CD11b expression. *Infect Immun*. 2011;79(4):1489–97. doi: 10.1128/IAI.00777-10. PMID: 21263017.

Bystrom A, Claesson R, Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol*. 1985;1(5):170–5. doi: 10.1111/j.1600-9657.1985.tb00652.x. PMID: 3865763.

Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1983;55(3):307–12. doi: 10.1016/0030-4220(83)90333-X. PMID: 6572884.

Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res*. 1981;89(4):321–8. doi: 10.1111/j.1600-0722.1981.tb01689.x. PMID: 6947391.

Cacciatore I, Cornacchia C, Pinnen F, Mollica A, Di Stefano A. Prodrug approach for increasing cellular glutathione levels. *Molecules*. 2010. doi: 10.3390/molecules15031242. PMID: 20335977.

Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol* 2000. 2014;64(1):57–80. doi: 10.1111/prd.12002. PMID: 24320956.

Chiang N, Fredman G, Bäckhed F, Oh SF, Vickery T, Schmidt BA, et al. Infection regulates pro-resolving mediators that lower antibiotic requirements.

Nature. 2012;484(7395):524–8. doi: 10.1038/nature11042. PMID: 22538616.

Chiang N, de la Rosa X, Libreros S, Serhan CN. Novel Resolvin D2 Receptor Axis in Infectious Inflammation. *J Immunol*. 2017. doi: 10.4049/jimmunol.1601650. PMID: 27994074.

Choi YS, Kim C, Moon JH, Lee JY. Removal and killing of multispecies endodontic biofilms by N-acetylcysteine. *Brazilian J Microbiol*. 2018;49(1):184–8. doi: 10.1016/j.bjm.2017.04.003. PMID: 28916389.

Cianci E, Recchiuti A, Trubiani O, Diomedea F, Marchisio M, Miscia S, et al. Human Periodontal Stem Cells Release Specialized Proresolving Mediators and Carry Immunomodulatory and Prohealing Properties Regulated by Lipoxins. *Stem Cells Transl Med*. 2016;5(1):20–32. doi: 10.5966/sctm.2015-0163. PMID: 26607175.

Croasdell A, Thatcher TH, Kottmann RM, Colas RA, Dalli J, Serhan CN, et al. Resolvins Attenuate Inflammation and Promote Resolution in Cigarette Smoke-Exposed Human Macrophages. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol*. 2015;ajplung.00125.2015. doi: 10.1152/ajplung.00125.2015. PMID: 26301452.

Dal Bello Y, Mezzalana GI, Jaguszewski LA, Hoffmann IP, Menchik VHS, Cecchin D, et al. Effectiveness of calcium and sodium hypochlorite in association with reciprocating instrumentation on decontamination of root canals infected with *Enterococcus faecalis*. *Aust Endod J*. 2018(4):1–6. doi: 10.1111/aej.12289.

Darveau RP. Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nat Rev Microbiol*. 2010;8(7):481–90. doi: 10.1038/nrmicro2337. PMID: 20514045.

Dondoni L, Scarparo RK, Kantarci A, Van Dyke TE, Figueiredo JAP, Batista JL. Effect of the pro-resolution lipid mediator Resolvin E1 (RvE1) on pulp tissues exposed to the oral environment. *Int Endod J*. 2014;47(9):827–34. doi: 10.1111/iej.12224. PMID: 24298979.

Van Dyke TE, Hasturk H, Kantarci A, Freire MO, Nguyen D, Dalli J, et al. Proresolving nanomedicines activate bone regeneration in periodontitis. *J Dent Res*. 2015;94(1):148–56. doi: 10.1177/0022034514557331. PMID: 25389003.

Eakin K, Baratz-Goldstein R, Pick CG, Zindel O, Balaban CD, Hoffer ME, et al. Efficacy of N-acetyl cysteine in traumatic brain injury. *PLoS One*. 2014;9(4). doi: 10.1371/journal.pone.0090617. PMID: 24740427.

Ehsani M, Moghadamnia A-A, Zahedpasha S, Maliji G, Haghanifar S, Mir SM, et al. The role of prophylactic ibuprofen and N-acetylcysteine on the level of cytokines in periapical exudates and the post-treatment pain. *DARU J Pharm Sci.* 2012;20(1):30. doi: 10.1186/2008-2231-20-30. PMID: 23351387.

El-Sharkawy H, Aboelsaad N, Eliwa M, Darweesh M, Alshahat M, Kantarci A, et al. Adjunctive Treatment of Chronic Periodontitis With Daily Dietary Supplementation With Omega-3 Fatty Acids and Low-Dose Aspirin. *J Periodontol.* 2010;81(11):1635–43. doi: 10.1902/jop.2010.090628. PMID: 20572767.

Fernandes BS, Dean OM, Dodd S, Malhi GS, Berk M. *N*-Acetylcysteine in Depressive Symptoms and Functionality. *J Clin Psychiatry.* 2016;77(4):e457–66. doi: 10.4088/JCP.15r09984. PMID: 27137430.

Ferreira NS, Martinho FC, Cardoso FGR, Nascimento GG, Carvalho CAT, Valera MC. Microbiological profile resistant to different intracanal medications in primary endodontic infections. *J Endod.* 2015;41(6):824–30. doi: 10.1016/j.joen.2015.01.031. PMID: 25892513.

Fredman G, Li Y, Dalli J, Chiang N, Serhan CN. Self-limited versus delayed resolution of acute inflammation: Temporal regulation of pro-resolving mediators and microRNA. *Sci Rep.* 2012;2:639. doi: 10.1038/srep00639. PMID: 22957142.

Fredman G, Oh SF, Ayilavarapu S, Hasturk H, Serhan CN, van Dyke TE. Impaired phagocytosis in localized aggressive periodontitis: Rescue by resolvin E1. *PLoS One.* 2011;6(9):e24422. doi: 10.1371/journal.pone.0024422. PMID: 21935407.

Freire M, Van Dyke T. Natural resolution of inflammation. *Periodontol* 2000. 2013;63(1):149–64. doi: 10.1111/prd.12034. PMID: 23931059.

Ghatole K, Gowdra RG, Azher S, Sabharwal S, Singh V, Sundararajan B. Enhancing the antibacterial activity of the gold standard intracanal medicament with incorporation of silver zeolite: An in vitro study. *J Int Soc Prev Community Dent.* 2016;6(1):75–9. doi: 10.4103/2231-0762.175418. PMID: 27011937.

Gilroy DW, Lawrence T, Perretti M, Rossi AG. Inflammatory Resolution: new opportunities for drug discovery. *Nat Rev Drug Discov.* 2004;3(5):401–16. doi: 10.1038/nrd1383. PMID: 15136788.

Gomes BPF de A, Vianna ME, Sena NT, Zaia AA, Ferraz CCR, de Souza Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of calcium hydroxide combined with chlorhexidine gel used as intracanal medicament. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;102(4):544–50. doi: 10.1016/j.tripleo.2006.04.010. PMID: 16997123.

Gondim JO, Avaca-Crusca JS, Valentini SR, Zanelli CF, Spolidorio DMP, Giro EMA. Effect of a calcium hydroxide/chlorhexidine paste as intracanal dressing in human primary teeth with necrotic pulp against *Porphyromonas gingivalis* and *Enterococcus faecalis*. *Int J Paediatr Dent.* 2012;22(2):116–24. doi: 10.1111/j.1365-263X.2011.01174.x. PMID: 21883559.

Gorbet MB, Sefton M V. Endotoxin: The uninvited guest. *Biomaterials.* 2005;26(34):6811–7. doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.04.063. PMID: 16019062.

Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Dent Clin North Am.* 2010;54(2):291–312. doi: 10.1016/j.cden.2009.12.001. PMID: 20433979.

Han B, Wang X, Liu J, Liang F, Qu X, Yang Z, et al. Influence of calcium hydroxide-loaded microcapsules on osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor kappa B ligand activity. *J Endod.* 2014;40(12):1977–82. doi: 10.1016/j.joen.2014.08.008. PMID: 25266469.

Hanada T, Yoshimura A. Regulation of cytokine signaling and inflammation. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2002;13(4–5):413–21. doi: 10.1016/S1359-6101(02)00026-6. PMID: 12220554.

Hasna AA. Efeitos da N-acetilcisteína e da terapia fotodinâmica sobre *Enterococcus faecalis* em canais radiculares. [Dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciências e Tecnologia; 2018.

Hasselgren G, Olsson B, Cvek M. Effects of calcium hydroxide and sodium hypochlorite on the dissolution of necrotic porcine muscle tissue. *J Endod.* 1988;14(3):125–7. doi: 10.1016/S0099-2399(88)80212-7. PMID: 3268627.

Hasturk H, Kantarci A, Ohira T, Arita M, Ebrahimi N, Chiang N, et al. RvE1 protects from local inflammation and osteoclast-mediated bone destruction in periodontitis. *FASEB J.* 2006;20(2):401–3. doi: 10.1096/fj.05-4724fje. PMID: 16373400.

Hermann BW. Calciumhydroxyd Als Mittel Zum Behandein und FuÈllen Von ZahnwurzelkanaÈlen. 1920.

Ho KJ, Spite M, Owens CD, Lancero H, Kroemer AHK, Pande R, et al. Aspirin-triggered lipoxin and resolvin E1 modulate vascular smooth muscle phenotype and correlate with peripheral atherosclerosis. *Am J Pathol*. 2010;177(4):2116–23. doi: 10.2353/ajpath.2010.091082. PMID: 20709806.

Hong C-Y, Lin S-K, Kok S-H, Cheng S-J, Lee M-S, Wang T-M, et al. The role of lipopolysaccharide in infectious bone resorption of periapical lesion. *J Oral Pathol Med*. 2004;33(3):162–9. doi: 10.1111/j.0904-2512.2004.00045.x. PMID: 15128058.

Hsu BG, Lee RP, Yang FL, Harn HJ, Chen HI. Post-treatment with N-acetylcysteine ameliorates endotoxin shock-induced organ damage in conscious rats. *Life Sci*. 2006;79(21):2010–6. doi: 10.1016/j.lfs.2006.06.040. PMID: 16860347.

Hudert CA, Weylandt KH, Lu Y, Wang J, Hong S, Dignass A, et al. Transgenic mice rich in endogenous omega-3 fatty acids are protected from colitis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(30):11276–81. doi: 10.1073/pnas.0601280103. PMID: 16847262.

Hulsmann M, Peters OA, Dummer PMH. Mechanical preparation of root canals: shaping goals, techniques and means. *Endod Top*. 2005;10(1):30–76. doi: 10.1111/j.1601-1546.2005.00152.x.

Hurley JC. Endotoxemia: Methods of detection and clinical correlates. *Clin Microbiol Rev*. 1995;268–92. PMID: 7621402.

Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol*. 1965;20(3):340–9. doi: [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(65\)90166-0](https://doi.org/10.1016/0030-4220(65)90166-0). PMID: 14342926.

Krishnamoorthy S, Recchiuti A, Chiang N, Fredman G, Serhan CN. Resolvin D1 receptor stereoselectivity and regulation of inflammation and proresolving MicroRNAs. *Am J Pathol*. 2012;180(5):2018–27. doi: 10.1016/j.ajpath.2012.01.028. PMID: 22449948.

Lee C-T, Teles R, Kantarci A, Chen T, McCafferty J, Starr JR, et al. Resolvin E1 Reverses Experimental Periodontitis and Dysbiosis. *J Immunol*.

2016;197(7):2796–806. doi: 10.4049/jimmunol.1600859. PMID: 27543615.

Lee TH, Mencia-Huerta JM, Shih C, Corey EJ, Lewis RA, Austen KF. Effects of exogenous arachidonic, eicosapentaenoic, and docosahexaenoic acids on the generation of 5-lipoxygenase pathway products by ionophore-activated human neutrophils. *J Clin Invest*. 1984;74(6):1922–33. doi: 10.1172/JCI111612. PMID: 6096400.

Lee YH, Bhattarai G, Park IS, Kim GR, Kim GE, Lee MH, et al. Bone regeneration around N-acetyl cysteine-loaded nanotube titanium dental implant in rat mandible. *Biomaterials*. 2013;34(38):10199–208. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.08.080. PMID: 24054849.

Leonardi R, Perrotta RE, Loreto C, Musumeci G, Crimi S, Dos Santos JN, et al. Toll-like receptor 4 expression in the epithelium of inflammatory periapical lesions. An immunohistochemical study. *Eur J Histochem*. 2015;59(4):2547. doi: 10.4081/ejh.2015.2547.

Levy BD, Clish CB, Schmidt B, Gronert K, Serhan CN. Lipid mediator class switching during acute inflammation: Signals in resolution. *Nat Immunol*. 2001;2(7):612–9. doi: 10.1038/89759. PMID: 11429545.

Lin YP, Love RM, Friedlander LT, Shang HF, Pai MH. Expression of Toll-like receptors 2 and 4 and the OPG-RANKL-RANK system in inflammatory external root resorption and external cervical resorption. *Int Endod J*. 2013;46(10):971–81. doi: 10.1111/iej.12088. PMID: 23521017.

Maddox JF, Colgan SP, Clish CB, Petasis NA, Fokin V V, Serhan CN. Lipoxin B4 regulates human monocyte/neutrophil adherence and motility: design of stable lipoxin B4 analogs with increased biologic activity. *FASEB J*. 1998;12(6):487–94. PMID: 9535221.

Maheswari E, Saraswathy GR, Santhranii T. Hepatoprotective and antioxidant activity of N-acetyl cysteine in carbamazepine-administered rats. *Indian J Pharmacol*. 2014;46(2):211. doi: 10.4103/0253-7613.129321. PMID: 24741196.

Makriyannis A, Nikas SP. Aspirin-triggered metabolites of EFAs. *Chem Biol*. 2011;18(10):1208–9. doi: 10.1016/j.chembiol.2011.10.005. PMID: 22035788.

Manzur A, González AM, Pozos A, Silva-Herzog D, Friedman S. Bacterial Quantification in Teeth with Apical Periodontitis Related to Instrumentation and Different Intracanal Medications: A Randomized Clinical Trial. *J Endod*.

2007;33(2):114–8. doi: 10.1016/j.joen.2006.11.003. PMID: 17258626.

Marchese A, Bozzolasco M, Gualco L, Debbia EA, Schito GC, Schito AM. Effect of fosfomycin alone and in combination with N-acetylcysteine on *E. coli* biofilms. *Int J Antimicrob Agents*. 2003;2:95–100. doi: 10.1016/S0924-8579(03)00232-2. PMID: 14527779.

Martínez-Banaclocha MA. N-acetyl-cysteine in the treatment of Parkinson's disease. What are we waiting for? *Med Hypotheses*. 2012;79(1):8–12. doi: 10.1016/j.mehy.2012.03.021. PMID: 22546753.

Martinho FC, Chiesa WMM, Leite FRM, Cirelli JA, Gomes BPFA. Antigenic activity of bacterial endodontic contents from primary root canal infection with periapical lesions against macrophage in the release of interleukin-1beta and tumor necrosis factor alfa. *J Endod*. 2010;36(9):1467–74. doi: 10.1016/j.joen.2010.06.012. PMID: 20728711.

Martinho FC, Gomes CC, Nascimento GG, Gomes APM, Leite FRM. Clinical comparison of the effectiveness of 7-and 14-day intracanal medications in root canal disinfection and inflammatory cytokines. *Clin Oral Investig*. 2018;22(1):523–30. doi: 10.1007/s00784-017-2143-x.

Martinho FC, Leite FRM, Chiesa WMM, Nascimento GG, Feres M, Gomes BPFA. Signaling pathways activation by primary endodontic infectious contents and production of inflammatory mediators. *J Endod*. 2014. doi: 10.1016/j.joen.2013.10.022. PMID: 24666896.

Martinho FC, Nascimento GG, Leite FRM, Gomes APM, Freitas LF, Camões ICG. Clinical influence of different intracanal medications on th1-type and th2-type cytokine responses in apical periodontitis. *J Endod*. 2015. doi: 10.1016/j.joen.2014.09.028. PMID: 25453567.

Medzhitov R. Inflammation 2010: New Adventures of an Old Flame. *Cell*. 2010;140(6):771–6. doi: 10.1016/j.cell.2010.03.006. PMID: 20303867.

Menezes MM, Valera MC, Jorge AOC, Koga-Ito CY, Camargo CHR, Mancini MNG. In vitro evaluation of the effectiveness of irrigants and intracanal medicaments on microorganisms within root canals. *Int Endod J*. 2004;37(5):311–9. doi: 10.1111/j.0143-2885.2004.00799.x. PMID: 15086752.

Menon R, Krzyszczyk P, Berthiaume F. Pro-Resolution Potency of Resolvins D1, D2 and E1 on Neutrophil Migration and in Dermal Wound Healing. *Nano*

Life. 2017;07(01):1750002. doi: 10.1142/S1793984417500027. PMID: 29552232.

Mohammadi Z, Dummer PMH. Properties and applications of calcium hydroxide in endodontics and dental traumatology. *Int Endod J*. 2011;44(8):697–730. doi: 10.1111/j.1365-2591.2011.01886.x. PMID: 21535021.

Möller AJ, Fabricius L, Dahlén G, Ohman AE, Heyden G. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scand J Dent Res*. 1981;89(6):475–84. doi: 10.1111/j.1600-0722.1981.tb01711.x. PMID: 6951246.

Moon JH, Choi YS, Lee HW, Heo JS, Chang SW, Lee JY. Antibacterial effects of N-acetylcysteine against endodontic pathogens. *J Microbiol*. 2016;54(4):322–9. doi: 10.1007/s12275-016-5534-9. PMID: 27033208.

Mustafa M, Zarrouh A, Bolstad AI, Lygre H, Mustafa K, Hasturk H, et al. Resolvin D1 protects periodontal ligament. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2013;305(6):C673–9. doi: 10.1152/ajpcell.00242.2012. PMID: 23864609.

Nair PNR. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2004;15(6):348–81. doi: 10.1177/154411130401500604. PMID: 15574679.

Nair PNR. Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. *Periodontol 2000*. 1997;13:121–48. doi: 10.1111/j.1600-0757.1997.tb00098.x. PMID: 9567926.

Oh SF, Pillai PS, Recchiuti A, Yang R, Serhan CN. Pro-resolving actions and stereoselective biosynthesis of 18S E-series resolvins in human leukocytes and murine inflammation. *J Clin Invest*. 2011;121(2):569–81. doi: 10.1172/JCI42545. PMID: 21206090.

Oliveira LD, Leao MVP, Carvalho CAT, Camargo CHR, Valera MC, Jorge AOC, et al. In vitro effects of calcium hydroxide and polymyxin B on endotoxins in root canals. *J Dent*. 2005. doi: 10.1016/j.jdent.2004.08.008. PMID: 15683891.

Olofsson AC, Hermansson M, Elwing H. N-acetyl-L-cysteine affects growth, extracellular polysaccharide production, and bacterial biofilm formation on solid surfaces. *Appl Environ Microbiol*. 2003;69(8):4814–22. doi:

10.1128/AEM.69.8.4814-4822.2003. PMID: 12902275.

Palacio JR, Markert UR, Martínez P. Anti-inflammatory properties of N-acetylcysteine on lipopolysaccharide-activated macrophages. *Inflamm Res*. 2011;60(7):695–704. doi: 10.1007/s00011-011-0323-8. PMID: 21424515.

Palaniswamy U, Lakkam S, Arya S, Aravelli S. Effectiveness of N-acetyl cysteine, 2% chlorhexidine, and their combination as intracanal medicaments on *Enterococcus faecalis* biofilm. *J Conserv Dent*. 2016;19(1):17. doi: 10.4103/0972-0707.173186.

Parry MF, Neu HC. Effect of N-acetylcysteine on antibiotic activity and bacterial growth in vitro. *J Clin Microbiol*. 1977;5(1):58–61. PMID: 401831.

Pitts DL, Williams BL, Morton TH. Investigation of the role of endotoxin in periapical inflammation. *J Endod*. 1982;8(1):10–8. doi: 10.1016/S0099-2399(82)80310-5. PMID: 6948902.

Podbielski A, Spahr A, Haller B. Additive antimicrobial activity of calcium hydroxide and chlorhexidine on common endodontic bacterial pathogens. *J Endod*. 2003;29(5):340–5. doi: 10.1097/00004770-200305000-00006. PMID: 12775007.

Quah SY, Wu S, Lui JN, Sum CP, Tan KS. N-acetylcysteine inhibits growth and eradicates biofilm of *enterococcus faecalis*. *J Endod*. 2012;38(1):81–5. doi: 10.1016/j.joen.2011.10.004. PMID: 22152626.

Rabello DGD, Corazza BJM, Ferreira LL, Santamaria MP, Gomes APM, Martinho FC. Does supplemental photodynamic therapy optimize the disinfection of bacteria and endotoxins in one-visit and two-visit root canal therapy? A randomized clinical trial. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2017;19:205–11. doi: 10.1016/j.pdpdt.2017.06.005. PMID: 28619613.

Reit C, Dahlén G. Decision making analysis of endodontic treatment strategies in teeth with apical periodontitis. *Int Endod J*. 1988;21(5):291–9. doi: 10.1111/j.1365-2591.1988.tb01138.x. PMID: 3248906.

Rietschel ET, Brade H. Bacterial endotoxins. *Sci Am*. 1992;267(2):54–61. doi: 10.1038/scientificamerican0892-54. PMID: 1641625.

Rôças IN, Provenzano JC, Neves MAS, Siqueira JF. Disinfecting Effects of Rotary Instrumentation with Either 2.5% Sodium Hypochlorite or 2% Chlorhexidine as the Main Irrigant: A Randomized Clinical Study. *J Endod*.

2016;42(6):943–7. doi: 10.1016/j.joen.2016.03.019. PMID: 27142579.

Rôças IN, Siqueira JF. Identification of Bacteria Enduring Endodontic Treatment Procedures by a Combined Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction and Reverse-Capture Checkerboard Approach. *J Endod*. 2010;36(1):45–52. doi: 10.1016/j.joen.2009.10.022. PMID: 20003934.

Rossi D, Zlotnik A. The Biology of Chemokines and their Receptors. *Annu Rev Immunol*. 2000;18(1):217–42. doi: 10.1146/annurev.immunol.18.1.217. PMID: 10837058.

Safavi KE, Nichols FC. Effect of calcium hydroxide on bacterial lipopolysaccharide. *J Endod*. 1993;19(2):76–8. doi: 10.1016/S0099-2399(06)81199-4. PMID: 8509740.

Samuelsson B, Dahlén SE, Lindgren JA, Rouzer CA, Serhan CN. Leukotrienes and lipoxins: structures, biosynthesis, and biological effects. *Science*. 1987;237(4819):1171–6. doi: 10.1126/science.2820055. PMID: 2820055.

Samuni Y, Goldstein S, Dean OM, Berk M. The chemistry and biological activities of N-acetylcysteine. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1830(8):4117–29. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.04.016. PMID: 23618697.

Scarparo RK, Dondoni L, Böttcher DE, Grecca FS, Figueiredo JAP, Kantarci A, et al. Intracanal delivery of resolvin E1 controls inflammation in necrotic immature rat teeth. *J Endod*. 2014;40(5):678–82. doi: 10.1016/j.joen.2013.12.037. PMID: 24767563.

Schein B, Schilder H. Endotoxin content in endodontically involved teeth. *J Endod*. 1975;1(1):19–21. doi: 10.1016/S0099-2399(75)80244-5. PMID: 1061764.

Schwab JM, Chiang N, Arita M, Serhan CN. Resolvin E1 and protectin D1 activate inflammation-resolution programmes. *Nature*. 2007;447(7146):869–74. doi: 10.1038/nature05877. PMID: 17568749.

Seki H, Fukunaga K, Arita M, Arai H, Nakanishi H, Taguchi R, et al. The Anti-Inflammatory and Proresolving Mediator Resolvin E1 Protects Mice from Bacterial Pneumonia and Acute Lung Injury. *J Immunol*. 2010;184(2):836–43. doi: 10.4049/jimmunol.0901809. PMID: 20007539.

Serhan CN. Novel lipid mediators and resolution mechanisms in acute

inflammation: to resolve or not? *Am J Pathol.* 2010;177(4):1576–91. doi: 10.2353/ajpath.2010.100322. PMID: 20813960.

Serhan CN, Brain SD, Buckley CD, Gilroy DW, Haslett C, O'Neill LAJ, et al. Resolution of inflammation: state of the art, definitions and terms. *FASEB J.* 2007;21(2):325–32. doi: 10.1096/fj.06-7227rev. PMID: 17267386.

Serhan CN, Chiang N. Endogenous pro-resolving and anti-inflammatory lipid mediators: a new pharmacologic genus. *Br J Pharmacol.* 2009;153(S1):S200–15. doi: 10.1038/sj.bjp.0707489. PMID: 17965751.

Serhan CN, Clish CB, Brannon J, Colgan SP, Chiang N, Gronert K. Novel functional sets of lipid-derived mediators with antiinflammatory actions generated from omega-3 fatty acids via cyclooxygenase 2-nonsteroidal antiinflammatory drugs and transcellular processing. *J Exp Med.* 2000;192(8):1197–204. doi: 10.1084/jem.192.8.1197. PMID: 11034610.

Serhan CN, Hong S, Gronert K, Colgan SP, Devchand PR, Mirick G, et al. Resolvins: a family of bioactive products of omega-3 fatty acid transformation circuits initiated by aspirin treatment that counter proinflammation signals. *J Exp Med.* 2002;196(8):1025–37. doi: 10.1084/jem.20020760. PMID: 12391014.

Serhan CN, Maddox JF, Petasis NA, Akritopoulou-Zanze I, Papayianni A, Brady HR, et al. Design of Lipoxin A4 Stable Analogs That Block Transmigration and Adhesion of Human Neutrophils. *Biochemistry.* 1995;34(44):14609–15. doi: 10.1021/bi00044a041. PMID: 7578068.

Serhan CN, Yacoubian S, Yang R. Anti-Inflammatory and Proresolving Lipid Mediators. *Annu Rev Pathol Mech Dis.* 2008;3(1):279–312. doi: 10.1146/annurev.pathmechdis.3.121806.151409. PMID: 18233953.

Shuping GB, Ørstavik D, Sigurdsson A, Trope M. Reduction of intracanal bacteria using nickel-titanium rotary instrumentation and various medications. *J Endod.* 2000;26(12):751–5. doi: 10.1097/00004770-200012000-00022. PMID: 11471648.

Signoretti FGC, Gomes BPF de A, Montagner F, Barrichello Tosello F, Jacinto RC. Influence of 2% chlorhexidine gel on calcium hydroxide ionic dissociation and its ability of reducing endotoxin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011;111(5):653–8. doi: 10.1016/j.tripleo.2010.11.016. PMID: 21393032.

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. doi: 10.1016/S0099-2399(06)81199-4. PMID: 11833697.

Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J Am Coll Nutr*. 2002;21(6):495–505. doi: 10.1080/07315724.2002.10719248. PMID: 12480795.

Siqueira JF, Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: A critical review. *Int Endod J*. 1999. doi: 10.1046/j.1365-2591.1999.00275.x. PMID: 10551109.

Siqueira JF, Rôças IN. Bacterial pathogenesis and mediators in apical periodontitis. *Braz Dent J*. 2007;18(4):267–80. doi: 10.1590/S0103-64402007000400001. PMID: 18278296.

Siqueira JF, Rôças IN, Favieri A, Lima KC. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *J Endod*. 2000;26(6):331–4. doi: 10.1097/00004770-200006000-00006. PMID: 11199749.

Sousa ELR, Martinho FC, Leite FRM, Nascimento GG, Gomes BPFA. Macrophage cell activation with acute apical abscess contents determined by interleukin-1 beta and tumor necrosis factor alpha production. *J Endod*. 2014;40(11):1752–7. doi: 10.1016/j.joen.2014.06.019. PMID: 25205261.

Spite M, Clària J, Serhan CN. Resolvins, specialized proresolving lipid mediators, and their potential roles in metabolic diseases. *Cell Metab*. 2014;19(1):21–36. doi: 10.1016/j.cmet.2013.10.006. PMID: 24239568.
Spite M, Norling LV, Summers L, Yang R, Cooper D, Petasis NA, et al. Resolvin D2 is a potent regulator of leukocytes and controls microbial sepsis. *Nature*. 2009;461(7268):1287–91. doi: 10.1038/nature08541. PMID: 19865173.

Takahama A, Rôças IN, Faustino ISP, Alves FRF, Azevedo RS, Gomes CC, et al. Association between bacteria occurring in the apical canal system and expression of bone-resorbing mediators and matrix metalloproteinases in apical periodontitis. *Int Endod J*. 2018;51(7):738–46. doi: 10.1111/iej.12895. PMID: 29363148.

Tang L, Zhou XD, Wang Q, Zhang L, Wang Y, Li XY, et al. Expression of TRAF6 and pro-inflammatory cytokines through activation of TLR2, TLR4, NOD1, and NOD2 in human periodontal ligament fibroblasts. *Arch Oral Biol*.

2011;56(10):1064–72. doi: 10.1016/j.archoralbio.2011.02.020. PMID: 21457942.

Tarannum F, Faizuddin M. Association between lipoxin A4 and interleukin-12 in gingival crevicular fluid: a preliminary investigation. *J Periodontal Res.* 2017;52(2):210–7. doi: 10.1111/jre.12383. PMID: 27083145.

Tavares WLF, De Brito LCN, Henriques LCF, Teles FRF, Teles RP, Vieira LQ, et al. Effects of calcium hydroxide on cytokine expression in endodontic infections. *J Endod.* 2012;38(10):1368–71. doi: 10.1016/j.joen.2012.06.036. PMID: 22980179.

Tennert C, Fuhrmann M, Wittmer A, Karygianni L, Altenburger MJ, Pelz K, et al. New bacterial composition in primary and persistent/secondary endodontic infections with respect to clinical and radiographic findings. *J Endod.* 2014;40(5):670–7. doi: 10.1016/j.joen.2013.10.005. PMID: 24767562.

Toker H, Ozdemir H, Balcı H, Ozer H. N-acetylcysteine decreases alveolar bone loss on experimental periodontitis in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Periodontal Res.* 2012;47(6):793–9. doi: 10.1111/j.1600-0765.2012.01497.x. PMID: 22712627.

Türkün M, Cengiz T. The effects of sodium hypochlorite and calcium hydroxide on tissue dissolution and root canal cleanliness. *Int Endod J.* 1997;30(5):335–42. doi: 10.1111/j.1365-2591.1997.tb00720.x. PMID: 9477824.

Vajdovich P. Free radicals and antioxidants in inflammatory processes and ischemia-reperfusion injury. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2008;38(1):31–123. doi: 10.1016/j.cvsm.2007.11.008. PMID: 18249244.

Valdivieso ÁG, Dugour A V, Sotomayor V, Clauzure M, Figueroa JM, Santa-Coloma TA. N-acetyl cysteine reverts the proinflammatory state induced by cigarette smoke extract in lung Calu-3 cells. *Redox Biol.* 2018;16:294–302. doi: 10.1016/j.redox.2018.03.006. PMID: 29573703.

Valera MC, da Rosa JA, Maekawa LE, de Oliveira LD, Carvalho CAT, Koga-Ito CY, et al. Action of propolis and medications against *Escherichia coli* and endotoxin in root canals. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology.* 2010a;110(4):e70–4. doi: 10.1016/j.tripleo.2010.01.029. PMID: 20868987.

Valera MC, Salvia ACRD, Maekawa LE, Camargo SEA, Carvalho CAT,

Camargo CHR, et al. Antimicrobial analysis of chlorhexidine gel and intracanal medicaments against microorganisms inoculated in root canals. *Minerva Stomatol.* 2010b;59(7–8):415–21. PMID: 20842079.

Wallace JL, Fiorucci S. A magic bullet for mucosal protection...and aspirin is the trigger! *Trends Pharmacol Sci.* 2003;24(7):323–6. doi: 10.1016/S0165-6147(03)00166-4. PMID: 12871661.

Weidenbach H, Orth M, Adler G, Mertens T, Schmid RM. Treatment of chronic hepatitis B with high-dose intravenous N-acetyl-L-cysteine. *Hepatogastroenterology.* 2003;50(54):2105–8. PMID: 14696474.

Xavier ACC, Martinho FC, Chung A, Oliveira LD, Jorge AOC, Valera MC, et al. One-Visit Versus Two-Visit Root Canal Treatment: Effectiveness in the Removal of Endotoxins and Cultivable Bacteria. *J Endod.* 2013;39(8):959–64. doi: 10.1016/j.joen.2013.04.027. PMID: 23880258.

Yoo S, Lim JY, Hwang SW. Resolvins: Endogenously-Generated Potent Painkilling Substances and their Therapeutic Perspectives. *Curr Neuropharmacol.* 2013;11(6):664–76. doi: 10.2174/1570159X11311060009. PMID: 24396341.

Zhang H, Spapen H, Nguyen DN, Benlabed M, Buurman WA, Vincent JL. Protective effects of N-acetyl-L-cysteine in endotoxemia. *Am J Physiol.* 1994;266(5 Pt 2):H1746-54. doi: 10.1152/ajpheart.1994.266.5.H1746. PMID: 8203575.

Zlotnik A, Yoshie O. Chemokines: A New Classification Review System and Their Role in Immunity. *Immunity.* 2000;12(3):121–7. doi: 10.1016/S1074-7613(00)80165-X.

APÊNDICE A – Ficha clínica

Nome: _____

Data: ____/____/____

Dente: _____

HISTÓRIA MÉDICA

Estado de saúde geral:				
Medicamento em uso:				
()Diabete	()Hepatite	()Coração	Pressão:	()Sinusite
()Rim	()Alergia	()Úlceras	()Alcoolismo	(X)Fígado
()Doença mental	()Doenças sangue	()Outras		
Problemas com anestesia: NÃO				
Outros:				

HISTÓRIA CLÍNICA

Queixa principal: "PUS NOS DENTES DA FRENTE"				
TIPO DE DOR:	()Provocada	()Espontânea	()Intermitente	()Contínua
	()Localizada	()Difusa		
Tomou analgésico ou outro medicamento?				
A dor cessa com analgésico?				
Dói há quanto tempo?				

EXAME CLÍNICO LOCAL

() Dente cariado	(X) Dente restaurado	() Edema	() Alteração de cor	() Mobilidade
() Fístula	() Extrusão	() Oclusão	() Problema periodontal	

TESTES

() Frio	() Calor	() Palpação	() Percussão
----------	-----------	--------------	---------------

EXAME RADIOGRÁFICO

Câmara pulpar:	Canal radicular:
Estruturas adjacentes:	Diagnóstico provável:
Tratamento indicado:	

TRATAMENTO RADICAL

Medida aparente do dente no RX inicial:

Canal	Ponto de Referência	Comprimento real do instrumento ao ser retirado do canal:	Diferença entre ponta do instrumento ao ápice radicular:	Comprimento Real do canal (I.A.F.):	Comprimento de trabalho C.T. (I.A.I.):

Diâmetro do I.A.F. (nº do instrumento):
Diâmetro do I.A.I. (nº do instrumento):
Diâmetro cirúrgico do canal:
Escalonamento até:
Irrigação:

Curativo de demora:
Obturação (técnica e material):
Selamento:

DATA	TRATAMENTO	Visto Professor
OBS. Pós-operatória:		
Terapêutica sistêmica:		

CONTROLES RADIOGRÁFICOS

Data	Observações
1º	
2º	
3º	

ANEXO A – Termo de consentimento livre e esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



Caro(a) Senhor(a)

Eu, **Marcia Carneiro Valera**, professora titular da Disciplina de Endodontia da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos - UNESP, portador do CPF 092.585.227.96, estabelecido à Avenida Eng. Francisco José Longo, 777, na cidade de São José dos Campos-SP, telefone para contato (12) 3947 9048, sou responsável pela pesquisa cujo título é **“AVALIAÇÃO CLÍNICA DO EFEITO DE DIFERENTES MEDICAÇÕES INTRACANAIS NOS NÍVEIS DE RESOLVINAS E LIPOXINAS PERIAPICAIS – NOVAS PERSPECTIVAS ENDODÔNTICAS”**, o que significa que vamos tratar uma doença dentária aplicando técnicas já utilizadas e pretendemos avaliar a resposta do paciente à diferentes medicações.

Portanto, os objetivos do presente estudo são, avaliar o efeito do tratamento endodôntico (tratamento de canal) através do uso de diferentes tipos de medicações que serão colocadas no interior do canal radicular, na eliminação de bactérias dos canais e no retorno ao equilíbrio do organismo pela quantificação de reguladores lipídicos (substâncias com ação antiinflamatória) presentes no fluido periapical. Serão selecionados 36 pacientes com necessidade de tratamento endodôntico que serão divididos em 3 grupos (n=12) de acordo com a medicação a ser utilizada. Realizaremos coletas durante o procedimento, feitas com cones de papel absorvente, do líquido no interior do canal do dente a ser tratado e, em seguida, em laboratório, o material que foi coletado será submetido a análise.

O paciente como beneficiário, receberá tratamento endodôntico gratuitamente, com técnicas avançadas, seguindo protocolos consagrados que contribuirão para o sucesso do caso. O projeto proposto poderá acarretar em riscos mínimos ao paciente por se tratar de um procedimento invasivo; podem ocorrer imprevistos durante o atendimento em função do próprio tratamento. No caso de algum imprevisto, o paciente será amparado e receberá todos os cuidados necessários para controlar quaisquer eventualidades. Os medicamentos a serem utilizados possuem comprovação científica de ausência de efeitos tóxicos para o organismo. Além disso, todo o tratamento de canal será realizado dentro das normas de biossegurança e serão realizados por profissionais altamente capacitados; os resultados obtidos trarão benefícios para outras pessoas uma vez que a pesquisa irá gerar avanços científicos com melhoras no tratamento de canal realizado na atualidade. Serão necessários 2 atendimentos (3 horas cada atendimento) com um período de 14 dias de intervalo entre cada sessão até a conclusão do tratamento. O responsável pelo tratamento é a Cirurgiã Dentista e aluna de Pós Graduação Bruna Jordão Motta Corazza, (celular: 99151-2822 email:brunajordao1991@gmail.com), e

em caso de dúvida ou necessidade de intervenção, deve-se entrar em contato com ela, ou com outros participantes da pesquisa. Os pacientes serão chamados para acompanhamento radiográfico após 1 ano do tratamento finalizado. Além disso, o protocolo de conduta adotado é o mesmo já utilizado na prática clínica odontológica desta faculdade.

Se houver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética (CEP) do Instituto de Ciências e Tecnologia de São José dos Campos-ICT/ UNESP, situada na Av. Engº Francisco José Longo, 777 – CEP12.245-000, em São José dos Campos – SP, fone (12) 3947-9000. Informo que será garantida a liberdade da retirada do consentimento a qualquer momento e assim deixar de participar do estudo. Também não haverá custo nem pagamento pela colaboração.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Acredito ter sido esclarecido(a) a respeito das informações que liam para mim, descrevendo o estudo a ser realizado e concordo em receber atendimento em consultório odontológico. Declaro conhecer os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes, e que minha participação não implicará em nenhuma despesa.

NOME/RESPONSÁVEL _____

RG _____ CPF _____

ENDEREÇO COMPLETO _____

Assinatura Responsável

Assinatura Pesquisador

ANEXO B—Certificado do Comitê de Ética

UNESP - INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS									
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP									
DADOS DO PROJETO DE PESQUISA									
Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO CLÍNICA DO EFEITO DE DIFERENTES MEDICAÇÕES INTRACANAIS NOS NÍVEIS DE RESOLVINAS E LIPOXINAS PERIAPICAIS E NOVAS PERSPECTIVAS ENDODÔNTICAS									
Pesquisador: Marcia Carneiro Valera									
Área Temática:									
Versão: 2									
CAAE: 71575817.1.0000.0077									
Instituição Proponente: Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos - UNESP									
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio									
DADOS DO PARECER									
Número do Parecer: 2.292.674									
Apresentação do Projeto: O Projeto nomeado AVALIAÇÃO CLÍNICA DO EFEITO DE DIFERENTES MEDICAÇÕES INTRACANAIS NOS NÍVEIS DE RESOLVINAS E LIPOXINAS PERIAPICAIS – NOVAS PERSPECTIVAS ENDODÔNTICAS propõe o estudo do tratamento de doenças periodontais e endodônticas com um ou mais mediador lipídico específico, como uma opção na prática odontológica no que diz respeito ao seu uso como medicação intracanal em pacientes com periodontite apical. Com os resultados obtidos nesta pesquisa, espera-se ser possível conhecer o efeito das medicações intracanaís propostas sobre os níveis de mediadores lipídicos locais presentes nas lesões periapicais.									
Objetivo da Pesquisa: Avaliar o efeito de diferentes medicações intracanaís na descontaminação de canais com infecção endodôntica primária e lesão periapical, na redução dos níveis de endotoxinas e também avaliar o efeito dessas medicações sobre os níveis de mediadores lipídicos - Resolvinas (RvE1, RvD2) e lipoxina (LxA4) presentes no fluido periapical desses tipos de infecções.									
Avaliação dos Riscos e Benefícios: Tem como benefício à partir dos resultados obtidos, conhecer do efeito das medicações intracanaís sobre os níveis de mediadores lipídicos locais presentes nas lesões periapicais,									
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="border: none;">Endereço: Av. Engº Francisco José Longo 777</td> <td style="border: none;"></td> </tr> <tr> <td style="border: none;">Bairro: Jardim São Dimas</td> <td style="border: none; text-align: right;">CEP: 12.245-000</td> </tr> <tr> <td style="border: none;">UF: SP</td> <td style="border: none; text-align: right;">Município: SÃO JOSÉ DOS CAMPOS</td> </tr> <tr> <td style="border: none;">Telefone: (12)3947-9076</td> <td style="border: none; text-align: right;">Fax: (12)3947-9010 E-mail: ceph@fojic.unesp.br</td> </tr> </table>		Endereço: Av. Engº Francisco José Longo 777		Bairro: Jardim São Dimas	CEP: 12.245-000	UF: SP	Município: SÃO JOSÉ DOS CAMPOS	Telefone: (12)3947-9076	Fax: (12)3947-9010 E-mail: ceph@fojic.unesp.br
Endereço: Av. Engº Francisco José Longo 777									
Bairro: Jardim São Dimas	CEP: 12.245-000								
UF: SP	Município: SÃO JOSÉ DOS CAMPOS								
Telefone: (12)3947-9076	Fax: (12)3947-9010 E-mail: ceph@fojic.unesp.br								

**UNESP - INSTITUTO DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA -
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS**



Continuação do Parecer: 2.292.674

podendo introduzir um novo conceito de resolução inflamatório, no futuro, tendo mediadores lipídicos incorporados ou até mesmo utilizados como medicações intracanaís. Os resultados obtidos trarão benefícios uma vez que a pesquisa irá gerar avanços científicos com melhoras no tratamento de canal realizado na atualidade.

O projeto proposto poderá acarretar riscos mínimos ao paciente por se tratar de um procedimento invasivo no qual podem ocorrer imprevistos durante o atendimento em função do próprio tratamento. No caso de algum imprevisto, o paciente será amparado e receberá todos os cuidados necessários para controlar quaisquer eventualidades. Os medicamentos a serem utilizados possuem comprovação científica de ausência de efeitos tóxicos para o organismo. Além disso, todo o tratamento de canal será realizado dentro das normas de biossegurança e serão realizados por profissionais altamente capacitados.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante com previsão de recrutamento de trinta e seis pacientes adultos, com necessidade de tratamento endodôntico em dentes unirradiculares, com infecção endodôntica primária e periodontite apical. Os participantes serão selecionados e atendidos no Campus da Faculdade de Odontologia (UNESP) de São José dos Campos (SP), Brasil.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE adequado.

Recomendações:

O (a) pesquisador(a) irá receber e-mail da Secretaria do CEPH-ICT-CAMPUS DE SJCAMPOS-UNESP, para envio de relatórios parciais/final, para não incorrer na penalidade de não o fazendo, em não ter novas submissões avaliada pelo Comitê de Ética, até que sane a pendência de envio do relatório, na forma de notificação através do sistema da Plataforma Brasil. Obs:- No site do www.ict.unesp.br – Comitê de Ética Envolvendo Seres Humanos, encontrará o formulário para envio do Relatório parcial/final.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as pendências apontadas foram corrigidas adequadamente.

Considerações Finais a critério do CEP:

O Colegiado acata o parecer do(a) Relator(a).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço: Av. Eng ^o Francisco José Longo 777			
Bairro: Jardim São Dimas		CEP: 12.245-000	
UF: SP	Município: SÃO JOSÉ DOS CAMPOS		
Telefone: (12)3947-9078	Fax: (12)3947-9010	E-mail: ceph@focjc.unesp.br	

UNESP - INSTITUTO DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA -
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS



Continuação do Parecer: 2.292.874

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_944158.pdf	09/09/2017 21:58:13		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoPBREFORMULADO.pdf	09/09/2017 21:57:50	Marcia Carneiro Valera	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEreformulado.doc	09/09/2017 21:53:16	Marcia Carneiro Valera	Aceito
Outros	formularioresppend.doc	09/09/2017 21:51:17	Marcia Carneiro Valera	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto1.pdf	26/06/2017 11:01:50	Marcia Carneiro Valera	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO JOSE DOS CAMPOS, 22 de Setembro de 2017

Assinado por:
Denise Nicodemo
(Coordenador)

ANEXO C —Cadastro REBEC

