

## **Avaliação in vitro do escurecimento coronário causado pelo uso de diferentes medicações intracanal e barreiras cervicais, associados ao coágulo sanguíneo, utilizadas na terapia endodôntica regenerativa em dentes permanentes jovens**

Palavras-Chave: Endodontia regenerativa; Medicação intracanal; Barreira cervical

### **Autores(as):**

Bianca Ferro Borges Da Silva- FOP, UNICAMP

Rodolfo Figueiredo de Almeida (Coorientador)- FOP, UNICAMP

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriana de Jesus Soares - FOP UNICAMP)

## **INTRODUÇÃO:**

Este projeto tem como objetivo analisar a influência de diferentes medicações intracanal utilizadas na terapia endodôntica regenerativa associadas às barreiras cervicais e ao coágulo sanguíneo, no escurecimento coronário dental. Serão preparados 120 dentes bovinos, de modo que simulem dentes com rizogênese incompleta, e distribuídos aleatoriamente em quatro grupos experimentais iniciais, de acordo com as medicações intracanal utilizadas: 1) Pasta tripla antibiótica (Minociclina, Ciprofloxacina e metronidazol); 2) Hidróxido de Cálcio com clorexidina gel a 2%; 3) BIO-C TEMP; 4) Canal sem medicação – Grupo Controle Negativo. As medicações intracanal permanecerão nos canais por 21 dias. Após esse período a medicação será removida e o canal preenchido com anteparo um preparado de hidrocoloide Ágar diluído em água destilada e sangue de ovelha desfibrinado, seguido de membrana do colágeno, simulando o arcabouço formados na terapia regenerativa. A seguir, os grupos serão subdivididos em dois grupos de barreira cervical: MTA Angelus branco, Biodentine, EndoSeal MTA e Pasta composta pela associação de hidróxido de cálcio, óxido de zinco e gel de clorexidina a 2% os quais serão mantidos em uma incubadora com 100% de umidade, na temperatura de 37°C. A cor dos espécimes será avaliada utilizando um espectrofotômetro digital em diferentes tempos: T0' (baseline, após o preparo dos dentes e antes da inserção dos materiais) T1' (um dia após), T7', T21'. T0'' (antes do selamento cervical), T1'' (um dia após o selamento), T7'', T30'', T60'', T90'' e T180''. A variável de resposta utilizada para as análises estatísticas será a alteração de cor ( $\Delta E$ ) de cada grupo experimental, por período de tempo, adotando uma significância de 5%. Palavras-chave: Endodontia regenerativa; Medicação intracanal; Barreira cervical.

## **METODOLOGIA:**

Foram utilizados 120 incisivos bovinos íntegros e recém-extraídos. Os dentes foram limpos e padronizados na espessura das raízes em 1,91mm com valores iguais ou diferença máxima de  $\pm 0,37$  mm, para que a espessura de dentina radicular não interfira nos resultados (Santos et al., 2017) e para simular um dente com rizogênese incompleta e padronizar o comprimento radicular, cada dente foi seccionado, com o auxílio de disco diamantado dupla face cortante 4" x.12 x 1/2 (Extec Corp - Enfield, CT, USA) em 7 milímetros, medidos a partir da junção cimento-esmalte até o ápice, utilizando um paquímetro digital (Vonder Paquímetro Eletrônico Digital, Curitiba, PR, Brasil). Os dentes foram endodônticamente e o tecido pulpar removido. Ao final da padronização os dentes foram fechados com resina fotopolimerizável para evitar o extravasamento da medicação posteriormente.

O experimento acontecerá em fases:

Fase 1: Medicação intracanal (TAP, HCHX e BIO-C TEMP)

Fase 2: Realização do scaffold (sangue com ágar, ágar puro)

Fase 3: Selamento cervical (MTA HP Angelus, Biodentine, EndoSeal MTA e Pasta a base de hidróxido de cálcio, óxido de zinco e gel de clorexidina 2%)

### Fase 1: Medicação intracanal

Os dentes serão divididos de forma randomizada em 4 grupos experimentais (n = 40), de acordo com a medicação intracanal utilizada: TAP (metronidazol 400 mg, ciprofloxacina 250 mg e minociclina 50 mg), HCHX (Hidróxido de Cálcio com Clorexidina Gel a 2%), BIO-C TEMP (Angelus, Londrina, Paraná, Brasil), CN – Canal sem medicação. Todas as pastas serão introduzidas no canal radicular seguindo os protocolos e medidas do fabricante. Após a inserção da medicação intracanal, será realizado o selamento coronário provisório com 3mm de Coltosol (Coltène/Whaledent, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e a resina composta (Z250 Filtek; 3M ESPE, Sumaré, São Paulo, Brasil), sendo então, armazenados novamente em água destilada. Os espécimes serão colocados em estufa, a 37°C, por 21 dias. Após 1, 7 e 21 dias a cor dos espécimes será registrada. Após 3 semanas, a medicação intracanal será removida através de irrigação com 10 ml solução salina, os canais irrigados com 20 ml de EDTA 17% por 5 minutos, 5 ml de solução salina e os canais radiculares secos com pontas de papel absorvente para a próxima etapa.

### Fase 2: Realização do scaffold

Afim de simular o coágulo sanguíneo obtido clinicamente, nesta etapa laboratorial será utilizado como anteparo um preparado de hidrocoloide Ágar (Kasvi: São José dos Pinhais, PR, Brasil) diluído em água destilada na proporção de 12 g/ 1000 ml e mantido com temperatura entre 45° a 50 °. Em metade das amostras será inserido com auxílio de pipeta, 32 µl do preparado puro, na outra metade será adicionado homogeneamente 30 µl de sangue de ovelha desfibrinado (Neoreax, Maia, Portugal) sendo inserido os mesmos 30 µl por dente. Em seguida, uma matriz de colágeno reabsorvível (Surgicel; Ethicon, Sommerville, NJ, USA), com espessura de 2 milímetros, será colocada sobre o coágulo sanguíneo, antes da inserção do material utilizado para o selamento cervical.

### Fase 3: Selamento Cervical

Os espécimes de cada grupo experimental serão novamente divididos de forma randomizada em 12 subgrupos (n = 10), de acordo com o material utilizado no selamento cervical: MTA HP (Angelus, Londrina, PR, Brasil); Biodentine (Septodont, Saint Maur des Fossés, Île de France, França); EndoSeal MTA (Maruchi USA - Anaheim, CA, Estados Unidos da América) Pasta SFS composta pela associação de hidróxido de cálcio, óxido de zinco e gel de clorexidina a 2% na proporção 2:2:1. Os materiais serão manipulados de acordo com a recomendação do fabricante e inseridos na amostra em incrementos, 2 mm abaixo da JAC, através da cavidade de acesso utilizando um condensador (Odous de Deus, Belo Horizonte, MG, Brasil) utilizando uma leve pressão, para assegurar o contato do material a membrana de colágeno. Uma bolinha de algodão umedecida com solução salina será utilizada para adaptar o material da barreira cervical e a cavidade de acesso selada provisoriamente com Coltosol (Coltène/Whaledent, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e a resina composta (Z250 Filtek; 3M ESPE, Sumaré, São Paulo, Brasil). Os espécimes serão levados à estufa a 37°C imersos em água destilada (Shokouhinejad et al., 2019).



figura1- Esquema após inserção do scaffold, barreira cervical e selamento coronário

Para padronizar a área e condições de iluminação para registro da cor, uma matriz customizada foi fabricada, para cada dente, com silicone de condensação. Uma perfuração compatível com o tamanho da ponteira do espectrofotômetro (aproximadamente 6 mm de diâmetro) será realizada na área cervical da coroa dental (Shokouhinejad et al., 2019). A cor dos espécimes será avaliada utilizando o espectrofotômetro digital (Vita Easyshade, VITA Zahnfabrik, Bad Sackingen, Alemanha), seguindo a Comissão internacional de l'Éclairage (CIE) Lab System, para obter os valores de L\* (brilho), a\* e b\* (matiz) valores. A comparação entre os valores obtidos de L\*, a\* e b\* são expressos como  $\Delta E$ , que descreve a diferença de cor entre os valores iniciais e finais da cor dental. Em cada amostra foram realizadas medições repetidas de curto prazo (triplicata) sem interrupção (Pecho et al., 2015) e a média das repetições foi utilizada.

O espectrofotômetro foi calibrado antes de cada medição (dentro da ponta de calibração do instrumento), e as coordenadas CIE L\* (luminosidade), a\* (eixo verde- vermelho), b\* (eixo azul- amarelo), c\* (matiz) e H° (croma) obtidas foram aplicadas nas duas métricas de diferença de cores CIELAB ( $\Delta E_{ab}$ ) e CIEDE2000 ( $\Delta E_{00}$ ), de

acordo com as seguintes equações: 
$$\Delta E_{ab} = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

Onde  $\Delta L$ ,  $\Delta a$  e  $\Delta b$ , são as diferenças em final e inicial das respectivas coordenadas (L\*, a\*, b\*) em cada período

da mensuração de cor. 
$$\Delta E_{00} = \left[ (\Delta L' + K_L S_L)^2 + (\Delta C' + K_C S_C)^2 + (\Delta H' + K_H S_H)^2 + R_T (\Delta C' + K_C S_C) (\Delta H' + K_H S_H) \right]^{1/4}$$

Onde  $\Delta L$ ,  $\Delta C$  e  $\Delta H$  são diferenças de luminosidade, croma e matiz; RT (função de rotação) é responsável pela interação entre as diferenças de croma e matiz na região de azul; SL, SC e SH são funções de ponderação que ajustam a diferença de cor total para variação na localização dos pares de diferença de cor nas coordenadas L, a, b; KL, KC e KH (fatores paramétricos) são termos de correção para condições experimentais (Pecho et al., 2015). O limite de perceptibilidade humana para o  $\Delta E_{ab}$  (CIELAB) foi definido em 3.7 unidades para determinar quais diferenças foram visíveis. Portanto, qualquer alteração de cor encontrada no dente em que o  $\Delta E_{ab}$  foi maior que 3.7, foi considerado perceptível pelo olho humano (Santos et al., 2017). Enquanto o limite de perceptibilidade para o  $\Delta E_{00}$  (CIEDE2000) foi definido em 2.66 unidades (Péres et al., 2018)

Quadro 1: Representação da divisão dos grupos experimentais do estudo

Grupos experimentais	Medicação intracanal (n=40)	Scaffold (n=20)	Selamento Cervical (n=10)
TAP	Metronidazol e minociclina, com água destilada	Ágar com sangue	MTA HP EndoSeal
			MTA Angelus branco
			Biodentine
			Pasta SFS
HCHX	Hidróxido de cálcio P.A (Biodinâmica, Ibiporã, Paraná, Brasil) e clorexidina 2% gel (Endogel- Farmácia de Manipulação Essencial Farma Ltda., Itapetininga, SP, Brasil) na proporção de 1:1	Ágar com sangue	MTA P EndoSeal
			MTA Angelus branco
			Biodentine
			Pasta SFS
BIOC-TEMP	Óxido de Cálcio, Resina base, Tungstato de Cálcio e Óxido de Titânio (Angelus, Londrina, PR, Brasil)	Ágar com sangue	MTA EndoSeal
			MTA Angelus branco
			Biodentine
			Pasta SFS

Os registros de cor serão realizados nos seguintes momentos:

Fase 1:

T0: baseline, após o preparo dos dentes e antes da inserção dos materiais

T1: um dia após a inserção da MIC

T7: sete dias após a inserção da MIC

T21: vinte e um dias após a inserção da MIC

Fase 3:

T0: antes da realização do selamento cervical

T1: um dia após a realização do selamento cervical

T7: sete dias após realização do selamento cervical

T30: um mês após a realização do selamento cervical

T60: dois meses após a realização do selamento cervical

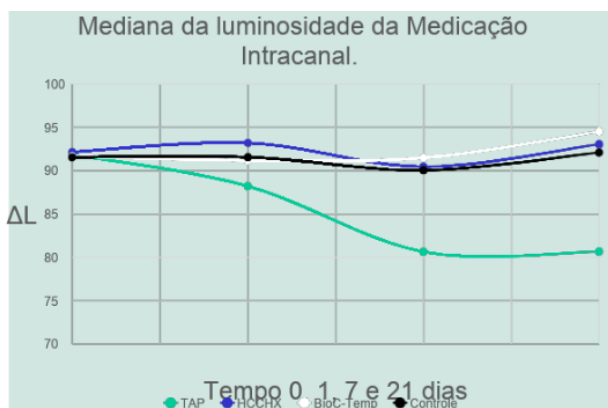
T90: três meses após a realização do selamento cervical

T180: seis meses após a realização do selamento cervical

A variável de resposta utilizada para análise será alteração de cor ( $\Delta E$ ) de cada grupo experimental, por período de tempo. Tais dados submetidos aos testes de normalidade de Shapiro Wilk e Levine para escolha do teste estatístico mais adequado. Após a avaliação dos pressupostos de normalidade, serão aplicados os testes de análise de variância (ANOVA) com pós teste de Tukey. Caso os dados não respeitem os pressupostos estatísticos, serão aplicados os testes de Kruskal Wallis com pós teste de Dunn. O nível de significância será estabelecido em  $\alpha = 5\%$

## RESULTADOS E DISCUSSÃO:

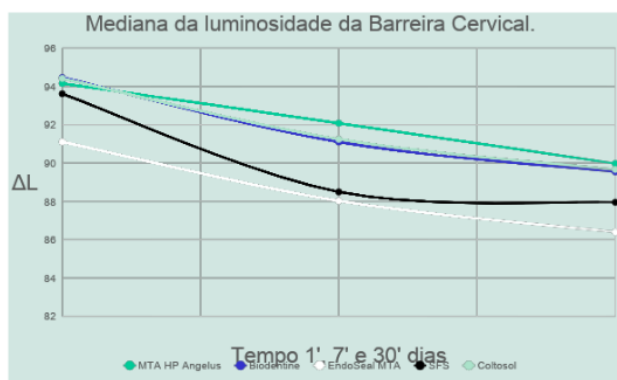
**Gráfico 1:** variação da luminosidade após medicação intracanal



O gráfico representa a mediana da luminosidade da medicação intracanal em um período de 21 dias, como pode ser analisado a pasta tripla antibiotica apresentou maior redução da luminosidade e portanto um maior escurecimento quando comparado a outros medicamentos. Como descrito e apresentado em diversos trabalhos a pasta tripla antibiotica apresenta efeitos adversos, como o escurecimento coronário (McKenna et al., 1999; Tredwin et al., 2005; Kim et al., 2010;), principalmente devido a minociclina pelo fato de ser um derivado da tetraciclina, ter a habilidade de quelar íons de

cálcio, formando um complexo insolúvel, que quando incorporado à matriz dentinária, leva ao escurecimento dental (Kim et al., 2010).

**Gráfico 2:** variação da luminosidade após barreira cervical



O gráfico 2 representa a mediana da luminosidade das barreiras cervicais e foi possível inferir que a luminosidade diminuiu em todos os grupos até o tempo de 31 dias, apresentando maiores alterações quando em conjunto com a pasta tripla. Levando em consideração apenas o selamento cervical, nos grupos controles negativos, foi notado que o pasta SFS (Hidróxido de Cálcio com clorexidina gel a 2%;) apresentou maior variação que os demais selamentos no

período de tempo analisado.

## CONCLUSÕES:

Considerando a luminosidade, a Pasta Tripla Antibiótica (TAP) apresentou maiores alterações no escurecimento dentário, até o período de 21 dias. Em relação à inserção do coágulo e das barreiras cervicais, a luminosidade diminuiu em todos os grupos até 30 dias, apresentando maiores alterações, até o momento, nos grupos com a pasta SFS e com o Endoseal MTA. Portanto o uso da TAP deve ser evitado visando menor alteração de cor nos procedimentos regenerativos endodônticos.

## BIBLIOGRAFIA:

1. Bukhari S, Kohli MR, Setzer F, Karabucak B. Outcome of Revascularization Procedure: A Retrospective Case Series. *J Endod.* 2016 Oct 7. pii: S0099-2399(16)30458-7.
2. De Campos IVB, Vieira WA, de Almeida RF, Gabriel PH, Marciano MA, Gomes BPFA, de Jesus-Soares A. In Vitro Dental Discoloration Provoked by Intracanal Calcium Silicate-based Dressing Used for Regenerative Endodontic Procedures: An One-year Spectrometric Analysis. *J Endod.* 2023 Jul;49(7):846-851. doi: 10.1016/j.joen.2023.04.009. Epub 2023 Apr 28
3. Hoshino E, Kurihara-Ando N, Sato I, Uematsu H, Sato M, Kota K, Iwaku M. In-vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. *Int Endod J.* 1996 Mar;29(2):125-30.
4. Kim JH, Kim Y, Shin SJ, Park JW, Jung IY. Tooth discoloration of immature permanent incisor associated with triple antibiotic therapy: a case report. *J Endod.* 2010 Jun;36(6):1086-91.
5. Thibodeau B, Trope M. Pulp revascularization of a necrotic infected immature permanent tooth: case report and review of the literature. *Pediatr Dent.* 2007 Jan-Feb;29(1):47-50.
6. Nagata JY, Gomes BP, Rocha Lima TF, Murakami LS, de Faria DE, Campos GR, et al. Traumatized immature teeth treated with 2 protocols of pulp revascularization. *J Endod.* 2014 May;40(5):606-12.
7. Chen MY, Chen KL, Chen CA, Tayebaty F, Rosenberg PA, Lin LM. Responses of immature permanent teeth with infected necrotic pulp tissue and apical periodontitis/abscess to revascularization procedures. *Int Endod J.* 2012 Mar;45(3):294-305.
8. McCabe P. Revascularization of an immature tooth with apical periodontitis using a single visit protocol: a case report. *Int Endod J.* 2015 May;48(5):484-97.
9. Felman D, Parashos P. Coronal tooth discoloration and white mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2013 Apr;39(4):484-7.
10. Jacobs JC, Troxel A, Ehrlich Y, Spolnik K, Bringas JS, Gregory RL, Yassen GH. Antibacterial Effects of Antimicrobials Used in Regenerative Endodontics against Biofilm Bacteria Obtained from Mature and Immature Teeth with Necrotic Pulps. *J Endod.* 2017 Apr;43(4):575-579.
11. Jenks DB, Ehrlich Y, Spolnik K, Gregory RL, Yassen GH. Residual antibiofilm effects of various concentrations of double antibiotic paste used during regenerative endodontics after different application times. *Arch Oral Biol.* 2016 Oct;70:88-93.
12. Soares Ade J, Lins FF, Nagata JY, Gomes BP, Zaia AA, Ferraz CC, et al. Pulp revascularization after root canal decontamination with calcium hydroxide and 2% chlorhexidine gel. *J Endod.* 2013 Mar;39(3):417-20.
13. Shokouhinejad N, Razmi H, Farbod M, Alikhasi M, Camilleri J. Coronal tooth discoloration induced by regenerative endodontic treatment using different scaffolds and intracanal coronal barriers: a 6-month ex vivo study. *Restor Dent Endod.* 2019 Jul 16;44(3):e25.