



VNIVERSITAT D VALÈNCIA  
Departament d'Estomatologia

**TESE DE DOUTORAMENTO**

TESIS DOCTORAL

**A ADAPTAÇÃO MARGINAL DO MTA EM DENTES IMATUROS**

**ADAPTACIÓN MARGINAL DEL MTA EN DIENTES INMADUROS**

***Pedro Jorge Rodrigues de Carvalho Bernardino***

**Direcção/Dirección:**

Prof.Dr. D. Leopoldo Forner Navarro

Prof. Doutor Rui Manuel Gonçalves Madureira

Profª Drª Dª Mª Carmen Llena Puy

Programa de Doutoramento/Doctorado  
"Fisiopatología del Aparato Estomatognático"  
"Doctorado en Odontología"

Valência/Valencia 2015



***Agradecimentos:***

Aos meus pais,

Por tudo o que me deram e fundamentalmente como me deram. O sorriso no olhar e o amor em cada gesto definem cada momento que partilhamos. Não podia sonhar por mais. São a luz que sempre iluminou o meu caminho. Uma vida não chega para agradecer.

A mis padres,

Por todo que me han dado y sobre todo como me lo han dado. La sonrisa en su mirada y el amor en cada gesto definen cada momento que compartimos. No podría soñar nada mejor. Son la luz que siempre ilumina mi camino. Una vida no es suficiente para agradecerlo.

Ao meu irmão Filipe,

Por ser o meu melhor amigo, aquele que me entende sem ser preciso falar... porque nem sempre quero falar. Por ser a extensão do olhar dos meus pais e me dar força em alturas preciosas.

A mi hermano Filipe,

Por ser mi mejor amigo, aquél que me entiende sin que sea necesario hablar... porque no siempre quiero hablar. Por ser la extensión de la mirada de mis padres y por darme fuerza en momentos preciosos.

À Dani,

Por ser o meu equilíbrio quando sinto que o estou a perder. Por me fazer sorrir, por me saber ouvir e sobretudo por me saber aconselhar. A palavra felicidade passou a fazer mais sentido desde que te tenho ao meu lado.

A Dani,

Por ser mi equilibrio cuando siento que lo estoy perdiendo. Por hacerme sonreír, por saberme escuchar y sobre todo por saberme aconsejar. La palabra felicidad tiene más sentido desde que te tengo a mi lado.

Aos meus avós,

Porque a saudade é algo que me alimenta e as memórias são companhia em momentos de silêncio. Tudo o que sou é também devido a eles. O quanto eu vos Amo!

A mis abuelos,

Porque la *saudade* es algo que me alimenta y las memorias son compañía en momentos de silencio. Todo lo que soy también se lo debo a ellos ¡Cuánto os quiero!

Aos meus familiares e amigos que de uma forma ou de outra me souberam dirigir uma palavra e me fazem sentir especial.

A mis familiares y amigos que de una forma o de otra me han dirigido una palabra y me hacen sentir especial.

Ao Professor Doutor Leopoldo Forner,

Por toda a sua dedicação e disponibilidade nas diversas fases deste percurso. Pela orientação sempre rigorosa mas estimulante. O profissionalismo e a forma incansável com que sempre me ajudou foram fundamentais para chegar até aqui. Obrigado pela amizade, pela forma paciente com que me ajudou e por nunca deixar de acreditar em mim.

Al Profesor Dr. D. Leopoldo Forner Navarro,

Por toda su dedicación y disponibilidad en las diversas fases de este trayecto. Por la orientación siempre rigurosa y estimulante. El profesionalismo y la forma incansable con que siempre me ha ayudado fueron fundamentales para llegar hasta aquí. Gracias por la amistad, por la forma paciente con que me ayudó y por no dejar nunca de creer en mí.

Ao Professor Rui Madureira,

Por me acompanhar desde o início da minha vida académica, sabendo sempre a forma mais correcta para me manter entusiasmado neste percurso. Obrigado por me alargar os horizontes com conselhos úteis e sobretudo pela sua amizade.

Al Profesor Dr. D. Rui Madureira,

Por acompañarme desde el inicio de mi vida académica, sabiendo siempre la forma más correcta para mantenerme entusiasmado en este trayecto. Gracias por ampliarme los horizontes con consejos útiles y sobre todo por su amistad.

À Professora Doutora M<sup>a</sup> Carmen Llena Puy,

Por toda a disponibilidade, ajuda e simpatia transmitidas ao longo deste trajecto.

A la Profesora Dra. Da. M<sup>a</sup> Carmen Llena Puy,

Por toda su disponibilidad, ayuda y simpatía trasmitidas al largo de este camino.

À Professora Doutora Márcia Costa,

Por sempre se mostrar disponível para ajudar, por sempre saber incentivar e nunca se ter cansado de me dar conselhos mesmo quando eu demonstrava sinais de fraqueza. A forma incansável e rigorosa com que trabalha sempre me serviram de exemplo.

A la Profesora Dra. Da. Márcia Costa,

Por estar siempre disponible para ayudar, por saber siempre alentar y por no haberse cansado nunca de darme consejos, principalmente cuando yo mostraba señales de debilidad. La forma incansable y rigurosa con que trabaja siempre me sirven de ejemplo.

À Mestre Ana Amorim,

Por todos os momentos partilhados nestes últimos anos da nossa vida académica e por todos os conselhos amigos que me foi transmitindo. Trabalhar com amigos é sempre mais fácil.

A la profesora Ana Amorim,

Por todos los momentos que hemos compartido en estos últimos años de nuestra vida académica y por todos los consejos amigos que me fue trasmitiendo. Trabajar con amigos siempre es más fácil.

Aos meus colegas de doutoramento, Professor Doutor Fausto Tadeu e Professora Doutora Liliana Castro,

Por todos os momentos partilhados e entre-ajuda que tornou tudo mais simples.

A mis compañeros de doctorado, Profesor Dr. D. Fausto Tadeu y Profesora Dra. Da. Liliana Castro,

Por todos los momentos vividos y de ayuda mutua que hicieron todo más sencillo.

Ao ISCS-Norte e em especial aos meus colegas do Serviço de Medicina Dentária Conservadora,

Por fazerem de mim um profissional melhor através da partilha de conhecimentos.

Al ISCS-Norte y en especial a mis compañeros del Servicio de Odontología Conservadora,

Por hacer de mí un profesional mejor a través del intercambio de conocimientos.

***"Todo o grande progresso da ciência resultou de uma nova audácia  
da imaginação."***

*(John Dewey)*



## ÍNDICE

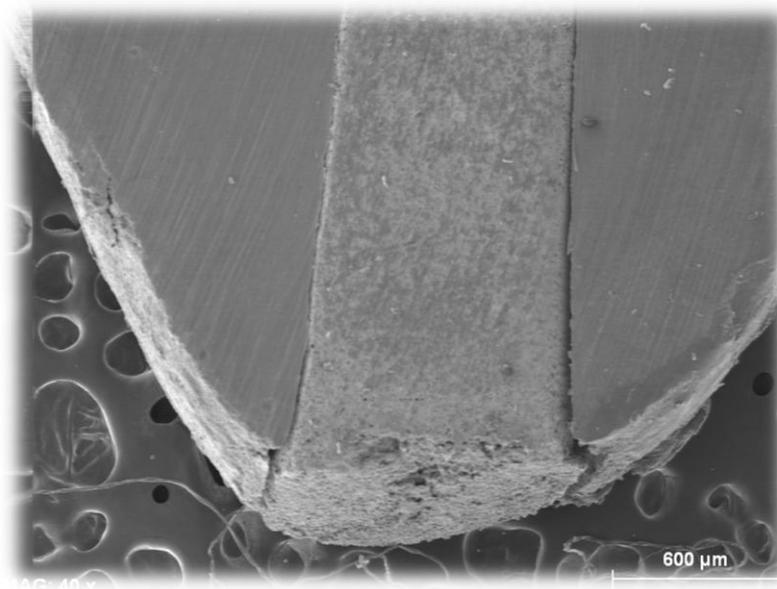
INTRODUÇÃO.....	1
ANTECEDENTES.....	2
1- A etiologia da patologia pulpar e periapical.....	2
2 - Objectivo do tratamento endodôntico .....	5
3- A importância da obturação.....	6
3.1- A barreira apical da obturação.....	8
4- A Endodontia nos dentes imaturos necrosados .....	8
4.1 - A Apexificação .....	9
4.2 - Técnica convencional de Apexificação: Hidróxido de cálcio .....	10
4.3 - Técnica de barreira apical com MTA: a alternativa.....	12
5 – Características do MTA (Mineral Trioxide Aggregate) .....	14
5.1 - Propriedades químicas, físicas e mecânicas.....	16
5.2 – O efeito de vários aditivos nas propriedades do MTA .....	19
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	21
1 - Apexificação: Hidróxido de Cálcio vs MTA .....	21
2 - Técnica de barreira apical com ou sem medicação prévia de Ca(OH) <sub>2</sub> .....	23
3 - Barreira apical de MTA: técnica de 1 passo vs técnica de 2 passos.....	25
4 - A utilização do MTA cinzento vs MTA branco nos ápices abertos.....	26
5- Considerações acerca da barreira apical de MTA .....	28
5.1-Espessura da barreira apical de MTA.....	29
5.2 - Extrusão do MTA .....	30
5.3 - MTA e a smear layer.....	32
6 - A Biocompatibilidade do MTA.....	33
7- Apexificação e MTA: que futuro?.....	35
8 – Epílogo da revisão bibliográfica .....	38
OBJECTIVOS .....	39
1 - Objectivo Geral.....	39
2 - Objectivos Específicos .....	39
METODOLOGIA.....	41
1 – Pesquisa bibliográfica .....	42
2 - Materiais.....	42
2.1 – Amostra .....	42

2.2 – Instrumentos .....	43
2.3 –Material de Obturação.....	46
2.4 – Corante.....	47
3 – Procedimento.....	47
3.1 – Preparação da amostra .....	47
3.2 – Preparação Biomecânica.....	47
3.3 - Grupos de estudo.....	48
3.4 - Obturação .....	48
3.5 – Observação e análise.....	49
4 – Análise Estatística.....	54
RESULTADOS E ARGUMENTAÇÃO.....	57
DESCRIBÇÃO DOS RESULTADOS .....	58
1 – Resultados da análise descritiva .....	58
1.1 – Grupo A: apex de calibre 60 .....	58
1.2 – Grupo B: apex de calibre 80 .....	59
1.3 – Grupo C: apex de calibre 100 .....	60
2 – Resultados da análise estatística.....	74
2.1 – Capacidade de selamento do MTA .....	75
2.2 – Adaptação marginal do MTA.....	76
2.3 – Correlação entre infiltração apical de corante e adaptação marginal de MTA....	78
DISCUSSÃO DOS RESULTADOS E DO PROCEDIMENTO .....	82
1 – Quanto ao procedimento:.....	83
2 - Quanto aos resultados: .....	89
CONCLUSÕES.....	97
BIBLIOGRAFIA.....	99
RESUMEN EN ESPAÑOL.....	115
Introducción .....	116
Objetivos. ....	118
1 - Objetivo General. ....	118
2 - Objetivos Específicos.....	118
Metodología.....	119
1 –Busqueda bibliográfica .....	119
2 - Materiales .....	119
2.1 – Muestra. ....	119
2.2 – Instrumentos.....	120

---

3 – Procedimiento. ....	122
3.1- Preparación de la muestra. ....	122
3.2- Preparación biomecánica. ....	122
3.3 - Grupos de estudio: ....	122
3.4 – Observación y análisis.....	124
4 – Análisis Estadístico.....	126
Resultados y desarrollo argumental.....	127
Descripción de los resultados.....	127
1 – Capacidad de sellado del MTA.....	128
2 – Adaptación marginal del MTA .....	128
3 – Correlación entre la filtración apical de colorante y la adaptación marginal de MTA .....	129
Discusión de los resultados y del procedimiento.....	129
1 – En relación al procedimiento:.....	130
2 –En relación a los resultados:.....	135
Conclusiones.....	143





## INTRODUÇÃO

## ANTECEDENTES

### 1- A etiologia da patologia pulpar e periapical

As lesões periapicais de origem endodôntica têm como causa primária a permanência de microorganismos no interior do canal e na zona periapical<sup>1-5</sup>.

Destas lesões, as mais frequentes, cerca de 90%, são granulomas, seguidos pelos quistos<sup>6</sup>. Estes dois tipos de lesões só podem ser distinguidas através de um exame histológico<sup>6</sup>.

O tratamento das lesões periapicais pressupõe a erradicação dos microorganismos da região periapical, o que, por vezes, se torna difícil<sup>2,7</sup>. Assim, para a resolução destas lesões, é importante conhecer a microflora patogénica presente para adequar a terapêutica necessária, de forma a obter um melhor prognóstico<sup>7,8</sup>.

Os tecidos reagem contra potenciais microorganismos invasores iniciando uma reacção imunológica sempre que o complexo dentino-pulpar é afectado. Se, por processos naturais ou procedimentos operatórios, este processo não for interrompido, os microorganismos invadem o complexo dentino-pulpar vencendo as suas defesas naturais, causando patologia<sup>9</sup>.

Todas as lesões pulpares, quer sejam iniciadas por agentes físicos, térmicos, químicos ou biológicos, desencadeiam uma resposta inflamatória, no entanto, os microorganismos são considerados os principais agentes etiológicos das patologias pulpares e periapicais, tendo particular relevância tanto na indução como na manutenção do processo inflamatório<sup>9-16</sup>.

As vias de acesso microbiano ao complexo dentino-pulpar são muitas, variando desde a exposição pulpar, aos túbulos dentinários, ao periodonto e à anacorese hematogénica<sup>9,17</sup>.

A contaminação do tecido pulpar dá-se, inicialmente, por microorganismos aeróbios e facultativos. Sabe-se, no entanto, que os microorganismos isolados nas infecções de origem endodôntica são, na sua grande parte anaeróbios. As bactérias aeróbias, através da produção de um meio com baixo potencial de oxigénio, facilitam a instalação de infecções anaeróbias. Estas infecções também podem surgir após um comprometimento do suprimento sanguíneo do tecido pulpar.

Entre os anaeróbios, os principais agentes infectantes nas necroses e periodontites apicais são os Gram-negativos e suas endotoxinas<sup>12, 18-20</sup>. Assim, as infecções endodônticas são polimicrobianas. Os microorganismos facultativos interactuam com os anaeróbios estritos, produzindo alterações do meio nutricional<sup>21</sup>.

As espécies bacterianas mais frequentemente isoladas nas infecções endodônticas primárias são do género *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Eubacterium*, *Actinomyces*, *Peptostreptococcus*, *Streptococcus* e *Lactobacillus*<sup>22</sup>.

Willoughby Dayton Miller, em 1894, demonstrou através de colheitas realizadas em canais radiculares infectados, a presença e associação entre bactérias e as patologias pulpares e periapicais<sup>9, 22</sup>. Foi o primeiro autor a referir esta ligação de vital importância para a compreensão de todo o processo de actuação na patologia endodôntica, e daí ser considerado o pai da Microbiologia Oral.

As reinfecções são provocadas por bactérias residuais que permanecem nos canais após o tratamento endodôntico<sup>5-7, 23</sup>. Estas bactérias são, normalmente, mais resistentes do que a maioria das encontradas nas infecções primárias<sup>5</sup>. As reinfecções podem ser consideradas monoinfecções provocadas, predominantemente, por bactérias anaeróbias facultativas Gram+ e, raramente, por bactérias anaeróbias estritas<sup>5, 7</sup>. Este facto sugere que as últimas têm dificuldade em sobreviver nos ambientes restritos nutricionalmente, como são os canais obturados<sup>5</sup>. Em comparação com as anaeróbias, as bactérias facultativas também

têm maior probabilidade de resistir aos procedimentos endodônticos mecânicos e antimicrobianos<sup>5</sup>. Nas reinfecções, também já têm sido isolados fungos como a *Cândida spp*<sup>23</sup>.

Entre as bactérias facultativas Gram+, as mais frequentemente isoladas são os *Enterococcus*, os *Streptococcus* e os *Actinomyces*<sup>5, 7</sup>. O *Enterococcus faecalis* é a espécie predominante, presente entre 29 a 64% dos casos, de acordo com vários estudos, facto que pode ser explicado pela capacidade das suas células invadirem os túbulos dentinários e aderirem ao colagénio na presença de soro humano<sup>5, 7, 8</sup>. Esta bactéria, tal como a maioria dos microorganismos mais resistentes, é alcalino-resistente, tendo a capacidade de resistir aos efeitos bactericidas do hipoclorito de sódio, bem como do hidróxido de cálcio, que é uma das medicações intra-canales mais comuns<sup>24, 25</sup>. Nestes casos, é importante adequar a terapêutica intra-canal, através da utilização da clorhexidina a 2% que tem demonstrado os seus efeitos antibacterianos, nomeadamente contra o *E. faecalis*<sup>25</sup>.

Entre os anaeróbios Gram-, os mais comuns são os *Peptostreptococcus*, a *Prevotellaspp.*, especialmente a *P. intermédia/P. nigrescens*, e a *Fusobacterium spp*<sup>7</sup>. Estas bactérias estão, geralmente, associadas a infecções com sintomas clínicos, nomeadamente com a presença de dor<sup>7</sup>.

Os fungos constituem uma pequena parte da flora oral e o mais frequente é a *Candida spp*, mais especificamente a *C. albicans*<sup>26</sup>. A presença deste fungo nas reinfecções endodônticas tem sido referida por vários autores, podendo surgir isolado ou em conjunto com bactérias<sup>23, 26</sup>.

Estudos mais recentes sugerem que os vírus pertencentes à família *Herpes viridae*, como o citomegalovirus humano e o vírus do Epstein-Barr, possam ter um papel importante no desenvolvimento de lesões periapicais sintomáticas<sup>27</sup>. Estes vírus têm sido isolados em

lesões periapicais sintomáticas, normalmente associados a bactérias, ainda que não se conheça bem o seu modo de intervenção na patologia<sup>27</sup>.

## 2 - Objectivo do tratamento endodôntico

O objectivo do tratamento endodôntico radical é o de prevenir ou tratar a patologia dentinária e pulpar e as suas complicações periapicais<sup>28, 29</sup>.

O propósito do tratamento endodôntico assenta na prevenção e eliminação da infecção bacteriana, através da correcta instrumentação e desinfecção do sistema de canais<sup>9, 10, 14, 30-32</sup>.

Devido a melhorias nas técnicas e materiais, a taxa de sucesso do tratamento endodôntico convencional tem vindo a aumentar, atingindo valores altos e previsíveis<sup>2, 33, 34</sup>. Tem sido referido que esta taxa de sucesso se situa entre os 86 e 96%, embora alguns autores defendam que é um pouco mais baixa<sup>1, 2, 7, 33-35</sup>.

No entanto, devido a problemas anatómicos e iatrogénicos, as patologias periapicais continuam a ocorrer<sup>33, 34</sup>.

A importância do conceito de “limpeza e modelagem” foi introduzida por Schilder<sup>36</sup>. Para que se consiga uma obturação eficaz é indispensável que se proceda à remoção de todo o conteúdo canalicular e ao estabelecimento de uma forma e preparo radicular correcto. Uma instrumentação inadequada levará, portanto, a uma obturação inadequada<sup>16, 19</sup>.

O preparo biomecânico constitui então uma fase extremamente importante no tratamento endodôntico, porque a remoção de todos os restos pulpares, bacterianos e outros, só se consegue efectivamente através de uma correcta instrumentação e desinfecção dos canais, com a utilização de agentes irrigantes próprios e eficazes<sup>16, 19, 37</sup>.

Por fim, a obturação deve selar completamente todo o sistema radicular, impedindo a reinfecção, quer pela microinfiltração apical e coronal, quer pela sobrevivência dos microorganismos que conseguem sobreviver aos passos anteriores<sup>12, 37, 38</sup>.

### **3- A importância da obturação**

O primeiro material utilizado na obturação de canais radiculares terá sido o ouro, de acordo com a literatura. Este procedimento operativo remonta a antes de 1800. Desde então houve uma série de evoluções e alterações tanto nos materiais, como nas técnicas utilizadas<sup>19</sup>.

A obturação endodôntica deve ser efectuada com um cimento endodôntico biologicamente compatível em conjunto com um material obturador principal para se conseguir estabelecer um selamento adequado e é caracterizada por um preenchimento tridimensional de todo o sistema de canais radiculares o mais próximo possível da junção cimento-dentinária<sup>19, 39</sup>.

Sabe-se que cerca de 60% dos fracassos endodônticos acontecem devido à ocorrência de falhas na obturação dos canais. A reinfecção do sistema canalicular está frequentemente associada às falhas de selamento tanto a nível coronal como apical<sup>40-45</sup>.

Segundo Buckley em 1929, as extremidades internas dos canalículos deveriam ser hermeticamente seladas, devido à impossibilidade de se esterilizar toda a massa canalicular de dentina, de modo a prevenir a infecção dos tecidos periapicais, sendo objectivo principal da obturação, a manutenção da saúde do periápice <sup>46</sup>.

A preparação biomecânica constitui uma fase extremamente importante no tratamento endodôntico uma vez que, se a microflora pulpar e periapical for controlada, a probabilidade de recuperação é elevada <sup>47</sup>. No entanto, a sua efectividade anti-séptica é de carácter parcial e temporária. Está provado que, apesar das modernas técnicas de instrumentação e a utilização de irrigantes muito mais efectivos, existem bactérias que sobrevivem nos túbulos dentinários e canais laterais <sup>12, 38, 48</sup>. Assim, se o canal radicular permanecer vazio durante muito tempo, apesar de limpo e selado coronalmente, ocorrerá proliferação dos microorganismos remanescentes. Consequentemente, é cada vez mais consensual, que a obturação hermética e tridimensional de todo o sistema canalicular é, indubitavelmente, fundamental <sup>14, 19, 32, 40, 41, 49-54</sup>.

Uma obturação ideal deve isolar as bactérias sobreviventes ainda existentes no sistema canalicular, impedir a penetração destas bactérias e suas toxinas para os tecidos periapicais, impedir que os líquidos intersticiais provenientes do foramen apical, canais laterais ou cavidade oral cheguem às bactérias residuais e levem os nutrientes necessários à sua proliferação e funcionar como uma barreira contra novas reinfecções <sup>14, 55-57</sup>.

As falhas de obturação produzem canais com espaços vazios, que funcionam como verdadeiros tubos de ensaio, colectando líquidos tecidulares e exsudados inflamatórios provenientes da região periapical. A sua decomposição gera produtos irritantes para os tecidos envolventes, propiciando um excelente meio de cultura microbiana. Desta forma gera-se um verdadeiro círculo vicioso de inflamação, com o crescimento e multiplicação dos microorganismos residuais <sup>7, 14, 42, 45, 58</sup>.

### 3.1- A barreira apical da obturação

Desde 1931, Rickert & Dixon afirmavam que o principal objectivo do tratamento endodôntico estava na obtenção de um selamento apical o mais perto possível da junção cimento-dentinária<sup>45</sup>.

Ainda hoje é referido que a instrumentação e obturação tem como limite essa referência anatômica, também chamada de constrição apical<sup>45</sup>. É o ponto mais estreito do canal e portanto o local onde o suprimento sanguíneo é menor<sup>7, 19</sup>. No entanto, o limite cimento-dentina-canal (limite CDC) é uma referência histológica e não clínica, e nem sempre corresponde à maior constrição da raiz como antes se pensava, podendo variar desde o ápex radiográfico até 3 mm coronalmente, dependendo da anatomia radicular de cada dente. Muitos autores defendem actualmente que a obturação endodôntica ideal deve estar entre 0,5 a 1 mm do ápex radiológico, sendo que o localizador apical terá um papel importante na confirmação deste limite<sup>19</sup>.

## **4- A Endodontia nos dentes imaturos necrosados**

O completo desenvolvimento radicular e encerramento do apex ocorre aproximadamente 3 anos após a erupção do dente<sup>59</sup>. Após a formação da coroa, o epitélio interno e externo de esmalte desenvolve-se como uma parede epitelial de duas camadas para formar a Bainha Epitelial de Hertwig (BEH), que representa um papel fundamental na diferenciação dos odontoblastos<sup>59</sup>. Quando a primeira camada de dentina já tiver sido formada, a BEH começa a desintegrar-se e apenas os Restos Epiteliais de Malassez persistem no ligamento periodontal<sup>59</sup>. Ao mesmo tempo a BEH progride em direcção apical até se formar completamente a raiz<sup>59</sup>.

Quando dentes com formação incompleta da raiz sofrem necrose pulpar, devido a trauma ou cárie, o desenvolvimento radicular é interrompido e conseqüentemente o canal permanece amplo com paredes finas e frágeis e o apex mantém-se aberto<sup>52, 53, 59-73</sup>. O tratamento endodôntico do canal torna-se, deste modo, um desafio<sup>59, 68, 71, 74-77</sup>. A ausência de uma constrição apical favorece a extrusão do material de obturação e esta sobre obturação tem efeitos negativos no prognóstico do tratamento endodôntico<sup>37, 53, 69, 73, 78</sup>. De acordo com Sjögren et al. obturações entre 0 e 2mm do apex têm taxas de sucesso de 94% enquanto essas taxas baixam para 76% quando há sobreobturação<sup>78</sup>. Nestes casos, no sentido de se conseguir uma boa condensação do material de obturação endodôntico e promover um bom selamento apical, é imperativo criar uma barreira apical artificial ou induzir o encerramento do foramen apical com tecido calcificado<sup>54, 59-62, 64-66, 68, 71, 74, 78-81</sup>.

#### 4.1 - A Apexificação

A Apexificação pode ser definida como um método para induzir a formação de uma barreira de tecido calcificado, ou o contínuo desenvolvimento apical de dentes com raízes incompletas e necrose pulpar<sup>59, 60, 64, 68, 71, 82</sup>. O objectivo deste tratamento será o de se obter uma barreira apical no sentido de se impedir a passagem de bactérias e toxinas do canal para os tecidos perapicais e vice-versa. Tecnicamente esta barreira também é necessária para permitir a compactação do material de obturação endodôntico<sup>59, 62, 64, 82-84</sup>.

O hidróxido de cálcio tem sido sugerido ao longo de muitos anos como material de eleição para este tratamento, no sentido de promover o encerramento apical induzindo a formação de uma barreira de tecido calcificado<sup>37, 53, 54, 59-66, 68, 70-76, 78, 80, 82-93</sup>. A sua eficácia tem sido demonstrada por vários autores mesmo na presença de lesão apical<sup>59, 71</sup>.

#### 4.2 - Técnica convencional de Apexificação: Hidróxido de cálcio

Hermann introduziu a utilização de hidróxido de cálcio na endodontia em 1920<sup>88</sup>. O hidróxido de cálcio funciona como medicação canalar antiséptica de acção lenta<sup>88</sup>. Necessita de um período de contacto de 24 horas para uma eliminação completa dos enterococos e de um período de contacto de uma semana para atingir uma taxa de redução bacteriana de 92,5%<sup>88</sup>. Para além disso, o hidróxido de cálcio tem a capacidade de hidrolisar a porção lipídica do lipopolissacarídeo bacteriano, provocando a inactivação da sua actividade biológica e consequentemente impedindo a inflamação periapical por si induzida<sup>88</sup>.

A técnica de Apexificação convencional através da utilização de Hidróxido de Cálcio foi pela primeira vez descrita por Kaiser em 1964 e mais tarde tornada popular por Frank em 1966<sup>77, 85, 91</sup>. Esta técnica tornou-se num procedimento clínico com resultados muito positivos, apresentando taxas de sucesso que variam entre os 79 e 96% segundo referem vários autores<sup>85, 92, 94, 95</sup>. O encerramento apical ocorre após a utilização de pasta de hidróxido de cálcio, requerendo para isso sucessivas mudanças da pasta até a barreira apical se formar<sup>54, 68</sup>. A duração total do tratamento utilizando esta técnica pode variar de 3 a 54 meses, dependendo da fase de desenvolvimento radicular e da presença ou ausência de lesão periapical<sup>85</sup>.

De acordo com Cvek (1972) esta técnica as taxas de sucesso elevadas que esta técnica pode obter, devem justificar-se pelo elevado pH do hidróxido de cálcio e pela sua presença física dentro do canal, oferecendo desta maneira um efeito antibacteriano através da inibição da actividade osteoclástica, evitando a penetração de granulação e exsudado e promovendo a formação de uma barreira de tecido duro<sup>92</sup>. O desenvolvimento da barreira de tecido duro inicia-se após a formação de uma zona necrótica de liquefacção e outra de coagulação, imediatamente adjacente ao hidróxido de cálcio<sup>96</sup>.

Contudo, apesar da sua eficácia, esta técnica apresenta algumas desvantagens como a grande variabilidade e duração do tempo total do tratamento, elevado número de consultas, elevado número de raios x necessários ao longo do tratamento, dificuldade no seguimento dos pacientes, factor estético relacionado a qualquer tratamento dentário dadas as exigências do paciente, vulnerabilidade da restauração temporária à re-infecção devido ao elevado tempo de exposição, elevado risco de fractura dentária subjacente a qualquer tratamento de longa duração e os aspectos financeiros associados às inúmeras consultas requeridas até finalizar o tratamento<sup>37, 53, 54, 59-64, 66, 68-78, 83, 85-87, 89, 91, 94</sup>. Outras desvantagens também apontadas ao hidróxido de cálcio, embora que menos frequentemente, são a falha na completa formação da barreira apical e a possibilidade de formação de uma zona necrótica de osso periapical, caso ocorra extrusão de pasta de hidróxido de cálcio, dado o seu elevado pH (12.7)<sup>71</sup>.

Alguns autores têm referido que o uso prolongado (acima de 60 dias) de pasta de  $\text{Ca(OH)}_2$ , como nos tratamentos de apexificação, pode efectivamente ter efeitos negativos sobre as propriedades intrínsecas da dentina radicular, diminuindo desse modo a sua resistência à fractura<sup>59, 71, 73, 74, 76, 85, 95, 97-99</sup>. O hidróxido de cálcio em longo prazo enfraquece a estrutura da raiz, neutralizando, desnaturando ou dissolvendo os componentes ácidos da dentina<sup>74</sup>. Estes componentes actuam como agentes de ligação entre a rede colagénica e os cristais de hidroxiapatite, portanto a sua destruição poderá efectivamente tornar o dente mais susceptível à fractura<sup>74, 95</sup>. Esta reacção proteolítica deve-se sobretudo à alta alcalinidade do hidróxido de cálcio<sup>95</sup>. Da mesma forma, outros autores referem especificamente que a interacção do hidróxido de cálcio com a fase orgânica da dentina resulta na degradação do colagénico tipo I, alterando a dureza da dentina<sup>100</sup>. Existe portanto uma desnaturação e hidrólise na matriz orgânica da dentina<sup>95</sup>.

Andreasen et al. (2006) demonstraram, num estudo recente, que raízes imaturas cujos canais receberam pasta de  $\text{Ca(OH)}_2$  apresentaram uma redução significativa de resistência à fractura ao fim de 100 dias comparativamente ao grupo de controlo<sup>85</sup>. Rafter (2005)

afirma que, associado a este factor, está também o facto de passar muito tempo sem o dente receber uma restauração definitiva e uma obturação endodôntica adequada, referindo que serão estes dois factores em conjunto os principais responsáveis pelos casos de fracturas radiculares antes de se finalizar o tratamento<sup>59</sup>.

Tendo em conta todos estes aspectos, um tratamento alternativo à apexificação convencional com  $\text{Ca(OH)}_2$  deverá ser capaz de oferecer melhores e mais previsíveis prognósticos a longo prazo para estes dentes comprometidos<sup>85</sup>.

#### 4.3 - Técnica de barreira apical com MTA: a alternativa

O “plug” apical ou barreira apical artificial através de uma variedade de materiais tem sido sugerida, ao longo dos tempos, como alternativa à tradicional apexificação com  $\text{Ca(OH)}_2$ .<sup>63, 74, 75, 77, 85, 87, 93</sup>. Alguns destes materiais apresentavam limitações quanto à sua disponibilidade para utilização clínica, enquanto outros apresentaram limitações quanto à biocompatibilidade<sup>63</sup>. Em 1999, Torabinejad e Chivian publicaram um artigo recomendando a utilização de “Mineral Trioxide Aggregate” (MTA) como barreira apical artificial e desde essa altura se tornou no material de escolha para a formação de barreiras apicais artificiais<sup>83, 85</sup>.

Desde então, são vários os autores que referem o MTA para formação de uma barreira apical artificial como alternativa mais promissora à técnica convencional de apexificação com Hidróxido de Cálcio<sup>37, 53, 59-65, 69-71, 76, 78-80, 82, 84, 86, 87, 89-91, 101, 102</sup>. A utilização deste material é referida por vários estudos que demonstram que se podem eliminar as diversas desvantagens do tratamento convencional com Hidróxido de Cálcio<sup>37, 70, 77</sup>. A utilização do MTA como barreira apical pressupõe a colocação deste material na zona apical, permitindo que após as 3 - 4h necessárias para ganhar presa em ambiente húmido se possa então obturar o restante canal com guta-percha<sup>75</sup>.

A popularidade do MTA como barreira apical artificial pode ser atribuída a vários factores. Já foi demonstrado que o MTA apresenta propriedades que o destacam dos outros materiais como a sua excelente biocompatibilidade e capacidade de selamento, bem como habilidade para estimular a reparação promovendo a adesão celular, crescimento e proliferação na sua superfície<sup>37, 59-61, 64, 65, 68, 70, 76, 79, 80, 82, 85, 86, 101-104</sup>. Vários estudos já demonstraram a capacidade que este material tem de estimular a proliferação de cementoblastos, fibroblastos e osteoblastos, estimulando assim a reparação de todos os tecidos que o envolvem<sup>102</sup>.

Em estudos que utilizaram o MTA como barreira apical artificial em dentes imaturos foi observada a formação de uma barreira apical de tecido calcificado<sup>59, 74, 102, 105</sup>. Após a colocação de MTA observa-se uma gradual redução do tamanho da radiolucência periapical significando portanto formação de novo tecido ósseo<sup>104</sup>. O silicato de cálcio é um dos ingredientes do MTA e a formação de apatite é uma característica dos materiais que contêm silicato de cálcio<sup>104</sup>.

A formação de uma ponte dentinária é mais frequente e mais rapidamente formada aquando a utilização do MTA, sendo ela mais espessa e de uma dentina menos porosa do que a obtida quando se utiliza o hidróxido de cálcio<sup>54, 96, 102, 106, 107</sup>. O hidróxido de cálcio em várias ocasiões esteve associado à formação de pontes de tecido duro incompletas e com múltiplos defeitos em túnel que podiam gerar maior índice de infiltrações<sup>96, 107, 108</sup>.

Após a compactação de MTA contra a dentina, ocorre a formação de uma camada na interface dentina-MTA, na presença de fosfatos<sup>109</sup>. Esta camada intersticial aderente, chamada frequentemente de hidroxiapatite por ter a mesma estrutura e composição quando examinada por método de difração de raios-x e por microscópio electrónico de varrimento, tem no entanto uma ligeira diferença no *ratio*cálcio-fósforo para a verdadeira hidroxiapatite<sup>109</sup>.

Com base em diferentes estudos, pode ver-se que o MTA é um material bioactivo que tem características clássicas para produzir cristais de apatite potenciando a formação de novo osso, nomeadamente: 1) formação de hidróxido de cálcio e pela libertação de iões de cálcio promove a adesão e proliferação celular; 2) cria um ambiente antibacteriano através do seu pH alcalino (12.5); 3) modula a produção de citocinas; 4) promove a diferenciação e migração de células produtoras de tecido duro; 5) e forma apatite carbonatada na sua superfície facilitando o selamento biológico<sup>104</sup>.

Foi descrito que o MTA tem a capacidade de estimular a deposição mineral na interface material-dentina e no interior dos tubulos dentinários e que isso pode ter um efeito muito positivo nas taxas de sucesso do material<sup>110</sup>. Este processo de mineralização pode privar os microorganismos, limitando a sua fonte de nutrientes e o espaço para a sua multiplicação<sup>110</sup>.

## **5 – Características do MTA (Mineral Trioxide Aggregate)**

Um material de reparação endodôntico deve idealmente aderir à estrutura dentária mantendo um correcto selamento, ser insolúvel nos fluidos tecidulares, dimensionalmente estável, não reabsorvível, radiopaco e ser biocompatível<sup>91, 111, 112</sup>.

Das características essenciais referidas, a capacidade de selamento e a biocompatibilidade são as mais estudadas, nomeadamente pelos métodos *in vitro* que têm sido frequentemente utilizados para avaliar a infiltração, adaptação marginal e citotoxicidade dos materiais de obturação<sup>113</sup>.

A capacidade de selamento dos materiais de obturação é essencial para o sucesso do tratamento já que, é o selamento da raiz que impede a movimentação de fluidos, microorganismos e seus produtos entre os canais radiculares e o tecido periapical<sup>1, 114-123</sup>. Esta característica pode ser determinada directamente, através da verificação do nível de infiltração que os materiais permitem, ou indirectamente, pela verificação da adaptação marginal dos materiais às raízes seccionadas, através da observação de zonas de descontinuidade entre eles<sup>116, 123, 124</sup>.

A biocompatibilidade é a capacidade de um material, utilizado numa função específica, provocar no tecido hóspede uma resposta apropriada, ou seja, a capacidade de permitir a cicatrização completa do tecido<sup>125</sup>. Os materiais dentários podem ter uma influência significativa nos tecidos do sistema orofacial porque os seus componentes, potencialmente tóxicos, podem provocar irritações nos tecidos adjacentes, interferir com os processos de cicatrização ou causar reacções alérgicas<sup>126</sup>. Assim, os materiais utilizados nos procedimentos endodônticos devem ser escolhidos cuidadosamente, para que as potenciais reacções periapicais possam ser evitadas ou, pelo menos, reduzidas<sup>126</sup>. Os tecidos periapicais estão expostos não só aos materiais de obturação de canais utilizados durante o tratamento endodôntico convencional, mas também aos materiais colocados em cirurgias endodônticas, tais como as reparações de perfurações e as apicectomias<sup>126</sup>. A biocompatibilidade é, então, tal como a capacidade de selamento, uma das características mais importantes dos materiais de reparação endodônticos, pois estes são colocados em contacto directo com o meio interno<sup>4, 34, 118, 126, 127</sup>.

O MTA (Mineral Trioxide Aggregate) é um biomaterial que tem sido estudado para aplicações endodônticas desde o início dos anos 90<sup>71, 110, 111</sup>. Foi primeiro descrito na literatura científica dentária em 1993 e a aprovação para uso endodôntico foi dada em 1998 pela FDA (Food and Drug Administration)<sup>71, 111</sup>. A forma original do MTA era cinzenta mas, em 2002, surgiu uma nova forma deste produto com uma cor parecida com a do dente, o MTA branco<sup>112, 128</sup>.

### 5.1 - Propriedades químicas, físicas e mecânicas

O MTA é uma mistura refinada de cimento de Portland, óxido de bismuto e gesso<sup>37, 53, 111</sup>. A adição de óxido de bismuto confere ao material uma radiopacidade superior à da dentina<sup>111</sup>. O pó do MTA é constituído por finas partículas hidrofílicas, cujos principais constituintes são o silicato dicálcico, silicato tricálcico, o aluminato tricálcico, o óxido tricálcico, aluminoferrato tetracálcico e gesso, possuindo outros óxidos minerais, responsáveis pelas suas características físico-químicas, tais como por exemplo, SiO<sub>2</sub>, CaO, MgO, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e o óxido de bismuto (Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)<sup>37, 64, 71, 77, 83, 84, 86, 91, 111, 129-136</sup>. O gesso é o componente principal na determinação do tempo de presa, sendo que o aluminoferrato tetracálcico também intervém nessa acção embora com menor preponderância<sup>37, 111</sup>.

Este pó sofre uma reacção de presa quando é misturado com água<sup>64, 111, 120, 130, 132, 133, 135, 137</sup>. Na preparação do cimento de MTA o pó deve misturar-se com água esterilizada numa proporção pó/água de 3:1 e é aconselhável, sempre que possível, deixar temporariamente uma bola de algodão húmida em contacto com o material após aplicação no dente até à consulta seguinte<sup>71, 91, 111</sup>. A hidratação do pó produz um gel coloidal que solidifica sobre uma estrutura dura em aproximadamente 3 a 4 horas contribuindo para isso também a humidade dos tecidos circundantes<sup>64, 71, 84, 86, 91, 111, 119, 120, 130, 133-135, 137</sup>.

Em relação ao cimento de Portland, o MTA contém aproximadamente metade da sua quantidade de gesso bem como menores percentagens de alumínio, o que lhe proporciona um tempo de trabalho superior<sup>111</sup>. Para além disso há outros aspectos que distinguem estes materiais, comprovando que um não substitui o outro. O MTA possui partículas de menor tamanho, menor quantidade de metais pesados e parece ter sofrido adicionais processos de purificação e processamento<sup>111, 138, 139</sup>.

O MTA é um cimento hidráulico que toma presa, com expansão, em contacto com a água, propriedade importante para todos os cimentos dentários<sup>53, 128, 137</sup>. Essa expansão contribui de forma favorável para a obtenção de um bom selamento por parte do material<sup>37</sup>.

A capacidade de selamento do MTA tem sido amplamente estudada e demonstrada *in vitro*, utilizando diferentes métodos<sup>140</sup>. Esta capacidade do MTA é atribuída à sua natureza hidrofílica e à expansão que sofre durante a reacção presa num ambiente húmido<sup>115, 120, 141</sup>. Aliás, a excelente capacidade de selamento que este material obtém na presença de humidade, podendo dessa forma ser aplicado em presença de sangue, é uma das características que o distingue de outros que são utilizados para o mesmo efeito<sup>69, 102, 110, 142</sup>. De um ponto de vista clínico, o MTA tem uma vantagem única para o tratamento de dentes imaturos porque um dos problemas mais frequentemente encontrado nestes casos é a presença de fluido tecidual ou exsudado dentro dos canais<sup>89</sup>.

Durante a reacção de hidratação liberta hidróxido de cálcio, apesar deste composto não fazer parte da sua constituição, reacção que parece ser responsável pela sua biocompatibilidade precoce<sup>119, 128, 132</sup>. A libertação de hidróxido de cálcio pode ser explicada pelo facto do MTA conter na sua composição óxido de cálcio capaz de reagir com os fluidos tecidulares para formar o hidróxido de cálcio referido<sup>119, 132</sup>. A reacção dos iões de cálcio libertados pelo MTA com os fosfatos existentes é responsável pela formação de hidroxiapatite<sup>53, 78</sup>. O pH inicial do MTA hidratado é de 10,2 aumentando para 12,5 após a tomada de presa, atingindo um pH similar ao hidróxido de cálcio<sup>53, 71, 86, 91, 111, 119, 130, 133, 135, 137</sup>. Quando o material endurece, o hidróxido de cálcio libertado forma cristais de calcite que atraem a fibronectina responsável pela adesão e diferenciação celular<sup>119</sup>. Tem sido demonstrado que o MTA promove a formação de cemento e osso e a regeneração do ligamento periodontal<sup>2, 102, 130, 143-145</sup>.

Já foi demonstrado que este material não é reabsorvível<sup>119</sup>. Este material tem uma baixa solubilidade mas uma baixa força de compressão, embora superior à de materiais como IRM e Super-EBA, não sendo por isso aconselhada a sua utilização em locais funcionais<sup>130</sup>.

<sup>137</sup>. No entanto alguns autores referem que a força compressiva do material vai aumentando simultaneamente com a sua maturação estrutural, na presença de humidade, durante aproximadamente 21 dias<sup>91, 146</sup>. A manipulação do MTA é difícil, sendo necessária muita prática para que o material não seja lavado ou alterado após a colocação e compactação na raiz, e, por outro lado, é um material bastante dispendioso<sup>2, 133, 141</sup>. Já foi referido que este material tem actividade antibacteriana e antifúngica, embora não tenha sido explicada<sup>71, 119, 129</sup>.

Num estudo de Al-Hezaimi et al. (2006) várias concentrações de MTA cinzento e branco foram testadas contra *E. faecalis* e *S. sanguis*, dois dos microorganismos mais prevalentes nos fracassos endodônticos<sup>71</sup>. Uma menor concentração de MTA cinzento, comparada com o branco, foi necessária para exibir o mesmo efeito antibacteriano contra cada um destes organismos<sup>71</sup>. Tanto o MTA cinzento como o branco são eficazes contra *C. albicans* mas, também aqui, em menores concentrações o MTA cinzento revela-se mais eficaz do que o branco<sup>71</sup>.

Este material tem inúmeras aplicações clínicas, além da apexificação, tais como, o capeamento pulpar directo, obturação retrógrada, a reparação de reabsorções radiculares e a reparação de lesões de furca ou outras perfurações<sup>37, 53, 70, 71, 78, 91, 113, 119, 126, 129, 130, 135, 141, 147</sup>.

Apesar de todas as vantagens já referidas em relação ao MTA, também se apontam algumas desvantagens relativamente a este material endodôntico, nomeadamente o seu potencial para alterar colorações dentárias, o seu longo tempo de presa que pode levar a uma maior infiltração bacteriana, difícil manipulação e altos custos<sup>53, 78, 81, 93, 99</sup>.

## 5.2 – O efeito de vários aditivos nas propriedades do MTA

Para melhorar as características físicas e químicas do MTA, nomeadamente o seu tempo de presa, potenciando assim as suas propriedades, vários foram os aditivos testados em associação com o material<sup>148, 149</sup>.

São conhecidos estudos com aditivos, em diferentes concentrações, como o cloreto de cálcio, cloreto de potássio, formiato de cálcio, gluconato de clorexidina, gel de hipoclorito de sódio, nitrato de cálcio, metilcelulose, lidocaína e lubrificante KY Jelly (Johnson & Johnson, New Brunswick, NJ)<sup>81, 148, 149</sup>. A maioria dos aditivos já estudados têm a capacidade de diminuir o tempo de presa do MTA, melhorando simultaneamente a manipulação do material. Por outro lado, aquilo que se verifica sempre que conseguem diminuir o tempo de presa do MTA é uma simultânea diminuição da sua força compressiva<sup>148, 149</sup>.

Kogan et al. (2006) adicionou alguns aditivos a uma fórmula de MTA cinzento para testar o tempo de presa do material<sup>148, 149</sup>. Os aditivos testados foram solução salina, lidocaína a 2%, gel de hipoclorito de sódio a 3%, gel de gluconato de clorexidina, KY Jelly e cloreto de cálcio a 3% e 5%<sup>148, 149</sup>. Os resultados demonstraram que o gel de hipoclorito de sódio, cloreto de cálcio a 5% e KY Jelly diminuíram significativamente o tempo de presa do MTA, porém cada um destes resultados foi acompanhado por uma diminuição significativa da força compressiva do material<sup>81, 148, 149</sup>. Desta forma os clínicos devem considerar os benefícios de um tempo de presa menor e maior facilidade de manipulação contra uma força compressiva menor para cada caso em particular<sup>148</sup>.

Existe uma procura constante de tentar melhorar as características do MTA nomeadamente o seu tempo de presa, como já referido, sendo essa uma das desvantagens apontadas ao material, de qualquer modo o ideal será que as características que o tornam superior a outros, como a biocompatibilidade, não sejam afectadas. AlAnezi et al. (2011) procurou saber quais os efeitos biológicos que teriam os aditivos com bons resultados nos testes aos

tempos de presa efectuados por Kogan et al. referidos anteriormente<sup>81, 149</sup>. No seu estudo, em que se utilizaram fibroblastos e osteoblastos de rato, o MTA mostrou ser biocompatível quando associado aos diferentes aditivos, havendo adesão e propagação dos fibroblastos e osteoblastos ao MTA cinzento misturado com os aditivos de uma forma similar ao MTA cinzento misturado com água<sup>81, 149</sup>.

Da mesma forma, também em relação à capacidade de selamento do MTA, (outra característica em que o material se evidencia) se procura saber se existem efeitos adversos na associação dos referidos aditivos. Mehrvarzfar et al. (2014) utilizou no seu estudo solução salina, KY Jelly e cloreto de cálcio a 5%, comparando os efeitos da associação destes aditivos ao MTA, utilizando um modelo de simulação de dentes com apex aberto de forma a testar a capacidade de selamento do material<sup>81</sup>. Foi observada uma superioridade da mistura que incluiu a solução salina de uma forma significativa em comparação com os outros dois aditivos<sup>81</sup>. Os melhores resultados apresentados pela adição da solução salina podem justificar-se pelo facto do potencial de selamento apresentado pelo MTA estar relacionado com as suas propriedades hidrofílicas e pela sua expansão aquando da mistura com água<sup>81</sup>. Por outro lado, quando misturado com KY Jelly ou cloreto de cálcio a 5% pode perder consistência, o que é confirmado dada a diminuição da força compressiva quando se adiciona algum destes aditivos<sup>81</sup>. Uma menor distância intermolecular do MTA quando misturado com solução salina, comparada à da mistura com cloreto de cálcio a 5% ou KY Jelly, pode justificar os resultados acima descritos<sup>81</sup>.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1 - Apexificação: Hidróxido de Cálcio vs MTA

Comparando directamente as duas técnicas, El Meligy e Avery (2006) trataram crianças com 2 incisivos permanentes imaturos não vitais em que realizaram a técnica tradicional de apexificação com  $\text{Ca(OH)}_2$  num deles e a técnica de barreira apical com MTA no outro. Após 12 meses 13 de 15 dentes tratados com  $\text{Ca(OH)}_2$  não apresentavam sintomas e apresentavam sinais de sucesso a nível radiográfico enquanto 15 de 15 dentes tratados com MTA tiveram o mesmo sucesso radiográfico e também não apresentavam sintomas. Embora os resultados não apresentem diferenças estatisticamente significativas, foi possível observar que a técnica da barreira apical com MTA pode alcançar resultados muito semelhantes à técnica convencional com Hidróxido de Cálcio<sup>85, 150</sup>.

Num outro estudo de Pradhan et al. (2006), os tempos de cura das duas técnicas foram comparados e os resultados indicaram tempos similares para ambas, confirmando mais uma vez que as técnicas são similares quanto ao sucesso obtido na resolução das radiolucências periapicais. Em adição, verificaram-se diferenças estatisticamente significativas quanto ao tempo total de tratamento, como se esperava, apresentando o grupo de MTA  $0.75 \pm 0.49$  meses e  $7 \pm 2.5$  meses o grupo de  $\text{Ca(OH)}_2$ <sup>85, 150</sup>.

O menor tempo total de tratamento com as barreiras apicais de MTA pode ser bastante vantajoso. A primeira vantagem é que o tratamento é menos dependente do paciente, pois, enquanto que o tratamento convencional com  $\text{Ca(OH)}_2$  requer um paciente motivado que compareça em cada consulta de seguimento, a técnica com MTA pode ser finalizada em apenas uma ou duas consultas<sup>59, 85</sup>. Outra grande vantagem da formação da barreira artificial de MTA é a possibilidade da rápida restauração definitiva do dente, visto que, o tratamento com Hidróxido de Cálcio requer uma restauração provisória entre cada sessão. Deste modo, estas restaurações de carácter temporário deixam a coroa já comprometida exposta a forças que podem levar à sua fractura e, por outro lado, a própria restauração

está mais sujeita a infiltrações que podem conduzir à re-infecção comprometendo o tratamento<sup>59, 85</sup>.

Tendo em conta alguns autores e nomeadamente o estudo anteriormente referido de Andreasen et al. acerca da redução da resistência à fractura em dentes submetidos ao tratamento de longo prazo através de  $\text{Ca(OH)}_2$  e não esquecendo que a estrutura radicular destes dentes já está por si só comprometida, a técnica com MTA vem reduzir drasticamente o tempo de tratamento e consequentemente risco de fractura<sup>59, 85</sup>.

Kofman et al. (2008) comparou a influência do MTA e do hidróxido de cálcio na resistência à fractura em dentes de ovelha durante um período de 1 ano<sup>95</sup>. Os resultados mostraram uma diminuição da resistência à fractura de 2% para o MTA e de 26% para o hidróxido de cálcio<sup>95</sup>. Os autores referem que, após uma diminuição inicial da resistência à fractura nos dentes tratados com MTA, o processo é revertido, e a resistência à fractura aumenta a partir dos 2 meses até 1 ano<sup>95</sup>. Segundo pensam, esta inibição da destruição que ocorre na dentina pode estar relacionada com uma mudança na matriz orgânica da dentina, como resultado de uma interacção biológica entre o MTA e a dentina durante todo o ano<sup>95</sup>.

Relativamente ao sucesso clínico dos procedimentos, deve ter-se em conta o tempo que cada autor utiliza para avaliar o sucesso pois, se analisarmos um estudo de Sarris et al. (2008), relativamente à técnica com MTA, as taxas de sucesso referidas são de 76.5% num intervalo de 6 a 16 meses, mas se compararmos com um estudo realizado por Pace et al. (2007) as taxas de sucesso aumentam para 91% sendo que, neste caso, o tempo de reavaliação de sucesso radiográfico é de 24 meses<sup>85</sup>. Já Mente et al. refere taxas de sucesso de 90% com uma média de seguimento de 21 meses, sendo que a taxa sobe para 96% se tivermos em conta só os dentes sem radiolucência periapical e baixa para 85% nos dentes com radiolucência periapical<sup>90</sup>.

Outro factor a ter em conta quando se analisam os diversos estudos é definição de sucesso que cada autor utiliza para o seu estudo. Alguns autores utilizam a definição publicada pela

Sociedade Europeia de Endodontologia (SEE) ou uma versão modificada da mesma<sup>85</sup>. A SEE define o sucesso como evidência radiográfica de um espaço normal do ligamento periodontal, diminuição do tamanho da lesão periapical comparando com a radiografia pré-operatória e ausência de sinais de reabsorção inflamatória externa radicular<sup>85</sup>. Outros estudos, no entanto, utilizam o índice periapical PAI para determinar o sucesso, índice este que se torna extremamente sensível e é susceptível a diferentes interpretações no que diz respeito à avaliação de casos de dentes imaturos dado que histologicamente a área periapical durante a formação radicular é muito diferente da de um dente completamente formado devido à diferenciação celular e à reorganização óssea<sup>59</sup>.

## 2 - Técnica de barreira apical com ou sem medicação prévia de $\text{Ca(OH)}_2$

O MTA pode ser aplicado em apenas uma consulta ou após uma aplicação de  $\text{Ca(OH)}_2$ , eliminando todavia o tempo de espera que podia variar de 3 a 54 meses na tradicional apexificação<sup>85</sup>.

Simon et al. (2007) num estudo prospectivo recente avaliaram os êxitos da utilização da técnica de barreira apical de MTA realizada em apenas 1 consulta com seguimento até 36 meses e obtiveram uma taxa de sucesso de 81%<sup>59</sup>. Vários autores têm feito referência, no entanto, ao uso do Hidróxido de Cálcio em associação à técnica da barreira apical de MTA, sugerindo que a sua aplicação durante um curto prazo pode beneficiar potencialmente o sucesso deste tratamento<sup>85</sup>. A limpeza e desinfecção química e mecânica pode ser difícil de executar em raízes e ápices imaturos em apenas uma consulta; raízes muito imaturas podem ter diâmetros canaliculares que excedem o tamanho dos instrumentos do profissional e a fina espessura das paredes radiculares pode tornar a instrumentação mecânica indesejável pelo risco de enfraquecimento da raiz e possível perfuração da parede<sup>85</sup>. Sjögren et al. (1991) demonstraram que a aplicação de pasta de  $\text{Ca(OH)}_2$  durante 7 dias era altamente efectiva na eliminação da flora intracanal, enquanto que noutra

estudo, Hasselgren et al. (1988) puderam também demonstrar que o  $\text{Ca(OH)}_2$  pode dissolver o tecido necrótico pulpar<sup>85</sup>. Deste modo a aplicação de uma pasta de Hidróxido de Cálcio como medicação intracanal durante uma semana pode beneficiar o paciente, permitindo a finalização do tratamento ainda num curto espaço de tempo, não reduzindo de uma forma significativa a resistência da raiz à fractura<sup>85</sup>.

De acordo com o descrito por Bogen e Kuttler (2009), a propósito de um estudo retrospectivo em que foram tratados 144 dentes com ápices abertos, as taxas de sucesso para uma consulta foram de 93.5% e de 90.5% para os casos tratados com medicação prévia de hidróxido de cálcio<sup>109</sup>. Os autores deste estudo concluíram que a barreira de MTA numa consulta seria uma alternativa viável, evitando assim a colocação prévia de hidróxido de cálcio e, portanto, a necessidade de uma segunda consulta<sup>109</sup>.

Não existem dúvidas quanto ao papel da medicação intrarradicular de Hidróxido de Cálcio na desinfecção do sistema canalicular. No entanto, a completa remoção dos restos da pasta de  $\text{Ca(OH)}_2$  das paredes dos canais num dente completamente formado, por si só, é dificilmente exequível e, o mesmo processo torna-se ainda mais difícil de executar se estivermos a falar da porção apical de dentes imaturos visto que as paredes do canal nessa zona se tornam divergentes uma da outra na maior parte das vezes<sup>74, 75</sup>. A remoção do  $\text{Ca(OH)}_2$  nestas zonas de divergência das paredes deixará portanto de ser mecânica e passará a ser inteiramente química através das soluções de NaOCl, resultando na natural acumulação de alguns resíduos<sup>74</sup>.

Quanto ao efeito da medicação prévia de  $\text{Ca(OH)}_2$  na microinfiltração apical do MTA alguns investigadores mostraram que os restos de  $\text{Ca(OH)}_2$  nas paredes dentinárias não produzem efeitos significativos nesse aspecto, enquanto existem outros que referem que esses restos são responsáveis pela formação de carbonato de cálcio, interferindo desse modo com o selamento adequado do MTA<sup>53, 78, 93</sup>. Por outro lado, existem autores que ainda defendem que a combinação de hidróxido de cálcio com MTA, em tratamentos de apexificação, pode influenciar favoravelmente a regeneração do periodonto<sup>53</sup>. Para além de efeitos na

capacidade de selamento, também a extrusão pode estar relacionada com o uso prévio de hidróxido de cálcio<sup>74</sup>.

### 3 - Barreira apical de MTA: técnica de 1 passo vs técnica de 2 passos

Têm sido conduzidas várias investigações ao tratamento de dentes com ápices abertos tratados com a barreira apical de MTA<sup>69</sup>. O MTA é um material hidrofílico e portanto é altamente recomendado que se coloque uma bola de algodão húmida por cima do material<sup>69</sup>. Na técnica de 1 passo esta colocação não é possível de realizar porque imediatamente após a colocação do MTA o canal deve ser obturado com gutta-percha<sup>69</sup>. Desta forma, este factor pode afectar de uma forma adversa a obtenção de uma presa adequada, bem como as propriedades físicas do MTA, tornando-o susceptível à infiltração<sup>69</sup>. A questão acerca da necessidade da colocação de uma bola de algodão húmida por cima do MTA continua, deste modo, a ser debatida<sup>69</sup>. Com o ápice aberto o MTA pode, ainda assim, tomar presa na presença de humidade periapical e, a ser verdade, o material pode ser utilizado numa técnica de 1 passo só<sup>69, 91</sup>. Os resultados de alguns estudos são ainda controversos pois, enquanto Al-Kahtani et al. (2005) num modelo de infiltração de bactérias não obteve diferenças significativas entre as duas técnicas, o mesmo não aconteceu nos estudos de Matt et al. (2004) e Yazdizadeh et al. (2013) em que técnica de 2 passos apresentou, de uma forma significativa, menos infiltração de corante que a técnica de 1 passo<sup>69, 70</sup>.

Walker et al. (2006) através de um estudo in vitro, testou a diferença na presa do MTA entre a técnica de 1 passo e a de 2 passos<sup>146</sup>. Os seus resultados sugerem que adicionar uma bola de algodão húmida dentro do canal aumenta significativamente a resistência à flexão da barreira de MTA<sup>146</sup>. Em contraste com estes resultados está o estudo de Budig e Eleazer (2008) que mostrou que o pó de MTA consegue atingir uma presa completa só através da humidade absorvida através da raiz embora este processo tenha demorado mais de 72 horas<sup>146</sup>. DeAngelis et al. (2013) refere que a colocação de bola de algodão húmida

por cima do MTA nos processos de apexificação, em casos de diâmetro apical superior a 1mm, pode não ser necessária<sup>146</sup>. O papel da pressão na ajuda da perfusão da humidade apical ainda está por ser determinado<sup>146</sup>.

#### **4 - A utilização do MTA cinzento vs MTA branco nos ápices abertos**

Nos últimos anos uma nova fórmula de MTA branco surgiu no âmbito de substituir o convencional MTA cinzento no sentido de evitar colorações dentárias provocadas, sobretudo, pela existência de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  na composição da fórmula mais antiga deste material<sup>74, 109, 151</sup>. Os materiais diferem um do outro na sua composição, sendo que a fórmula branca apresenta menores concentrações de magnésio, alumínio e principalmente de ferro, assumindo este último a maior responsabilidade na alteração de cor dos dentes<sup>152</sup>.

No entanto, alguns autores referem o aparecimento de colorações dentárias mesmo na utilização da fórmula branca, mostrando desta forma que o problema das colorações dentárias associadas ao MTA parece não estar completamente resolvido<sup>92, 107, 108, 151</sup>. Alguns autores sugerem que as colorações dentárias que aparecem no caso do MTA branco devem ser atribuídas à presença de óxido de bismuto na sua composição, no entanto ainda não existe evidencia científica que comprove este facto<sup>151</sup>. Outros referem, por outro lado, que embora as concentrações de óxido de alumínio, óxido de magnésio e óxido de ferro sejam bastante inferiores na fórmula branca, ainda assim a sua presença pode explicar o mecanismo de alteração de cor, ainda que esta seja menos pronunciada<sup>153</sup>.

A fórmula cinzenta de MTA já mostrou inúmeros sinais de sucesso em vários estudos nos quais foi utilizada, tanto *in vitro* como *in vivo*, demonstrando claramente taxas de sucesso elevadas quando utilizada clinicamente servindo de barreira artificial em dentes com ápices abertos<sup>74</sup>. A fórmula branca tem sido mais recentemente alvo de alguns estudos

comparativos no sentido de se saber o seu grau de êxito quando utilizada como barreira apical<sup>74</sup>.

Num estudo *in vitro* recente Stefopoulos et al. (2008) compararam as fórmulas de MTA branco e cinzento quanto à sua capacidade de selamento e adaptação marginal. O estudo foi também realizado com e sem colocação prévia de pasta de  $\text{Ca(OH)}_2$ , simulando desta forma as condições clínicas de execução da técnica com e sem medicação intracanal, determinando assim a sua possível influência nos resultados de ambas as fórmulas do material<sup>74</sup>. Os resultados do estudo sugerem que existe uma maior tendência significativa para extrusão do MTA branco. Tal facto foi atribuído à diferença na consistência do MTA branco após preparação relativamente ao cinzento, o que torna o seu manuseamento mais delicado<sup>74</sup>. O estudo indica também que a medicação prévia com pasta de  $\text{Ca(OH)}_2$  tem uma influência significativa na prevenção de extrusão do MTA branco. Isto deverá explicar-se dada a acumulação de resíduos de pasta na zona apical, o que pode mecanicamente impedir a extrusão de material<sup>74</sup>. No entanto, estes resultados não estão de acordo com os resultados obtidos por Felipe et al. (2006) num estudo *in vivo* no qual a pré-medicação com  $\text{Ca(OH)}_2$  favoreceu a extrusão do MTA<sup>74</sup>.

Os mesmos autores compararam também as fórmulas branca e cinzenta num estudo de infiltração de corantes e não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas. O mesmo não aconteceu no estudo de Matt et al. (2004) em que o MTA cinzento apresentou significativamente menos infiltração do que o branco. A explicação pode ser atribuída ao tipo de corante utilizado já que Stefopoulos et al. utilizaram fucsina básica enquanto Matt et al. utilizaram azul de metileno, corante este que já foi provado sofrer descoloração quando em contacto com o MTA cinzento<sup>74</sup>.

No que diz respeito à interferência da pré-medicação de  $\text{Ca(OH)}_2$  na capacidade de selamento do MTA, Hachmeister et al. (2002) e Stefopoulos et al. estão de acordo, referindo que não existe influência significativa na fórmula cinzenta<sup>74, 75, 111</sup>. Já no que se refere ao MTA branco Stefopoulos et al. encontram diferenças significativas, levando-os a

assumir que os resíduos de Hidróxido de Cálcio podem meramente ser um obstáculo mecânico na adaptação do MTA às paredes do canal ou reagir quimicamente com este<sup>74</sup>. Esta reacção poderá ser superior na fórmula branca de MTA visto esta não possuir na sua composição o  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  que existe na fórmula cinzenta<sup>74</sup>. Em termos clínicos estes resultados obtidos in vitro não são, de qualquer forma, linearmente reproduzíveis visto existirem estudos comprovativos do sucesso do MTA branco como por exemplo o estudo desenvolvido por Holden et al..

A realização de estudos deste género é, de todas as maneiras, extremamente importante na percepção do comportamento dos materiais.

Num estudo mais recente, Moore et al. (2011) comparou duas marcas comerciais de MTA branco, avaliando o seu sucesso clínico em 22 dentes não vitais com ápices abertos<sup>154</sup>. O autor do estudo refere que atingiu uma taxa de sucesso média de 95,5% e que não foram encontradas diferenças nas taxas de sucesso clínicas ou radiográficas dos dois tipos de MTA branco (ProRoot® ou Angelus)<sup>154</sup>. Após o seu trabalho concluiu que o MTA branco utilizado como barreira apical após medicação prévia com hidróxido de cálcio oferece excelentes resultados clínicos, o que faz deste material uma opção bastante atractiva para dentes imaturos não vitais, com resultados previsíveis<sup>154</sup>.

## **5- Considerações acerca da barreira apical de MTA**

Muito se tem estudado relativamente ao material e à técnica para se obter a barreira apical da forma mais correcta possível e foram já referenciados certos factores que podem influenciar o sucesso deste procedimento.

### 5.1-Espessura da barreira apical de MTA

Existem variações entre estudos tendo em conta a espessura da barreira apical<sup>68</sup>. Al-Kahtani et al. (2005) a propósito de um estudo efectuado num modelo de simulação de ápices imaturos in vitro, refere que apenas uma barreira apical de 5mm consegue impedir por completo a infiltração de bactérias<sup>81</sup>. Já outros estudos in vitro demonstraram que uma barreira de, no mínimo, 4mm de MTA será o suficiente para promover um adequado selamento apical e tanto a condensação manual como a ultrassónica oferecem bons resultados relativamente à microinfiltração<sup>74, 85, 98, 109, 111</sup>. Para além disso, segundo alguns autores, esta é a quantidade mínima de MTA para poder resistir às forças de deslocamento a que está sujeito o material durante a obturação do restante canal com guta-percha, permitindo em simultâneo um selamento eficaz<sup>75, 111</sup>.

A obtenção de uma barreira apical de 4mm é uma tarefa de difícil execução dadas as características de manuseamento do material e o seu transporte e colocação na zona terminal da raiz<sup>74, 75</sup>. A utilização de microscópio operatório e dispositivos como a pistola aplicadora de MTA facilitam toda esta operação delicada<sup>74</sup>. De qualquer forma, é praticamente inevitável que ocorra a deposição de pequenas quantidades de MTA ao longo das irregularidades das paredes do canal durante a colocação e condensação do material e, a sua remoção será quase impossível sem que se enfraqueça ainda mais as já frágeis paredes radiculares<sup>74, 75</sup>. Deste modo a adesão da guta-percha às paredes dentinárias ficará comprometida e isso poderá de alguma forma afectar a sua capacidade de selamento<sup>74</sup>.

A confecção de uma barreira apical de MTA com uma espessura de 4 a 5mm será então a que se deve procurar obter nos casos de tratamentos com este material para dentes imaturos de ápices abertos<sup>109, 155</sup>.

## 5.2 - Extrusão do MTA

Dadas as propriedades físicas e de manipulação do MTA a possibilidade de ocorrer extrusão do material em ápices abertos é elevada<sup>53, 73, 78</sup>. Na extrusão de materiais de obturação canal em que estes contactam com os tecidos periapicais, uma variedade de reacções pode ocorrer, tais como uma inflamação moderada a severa, reacções alérgicas, e efeitos neurotóxicos<sup>53, 78, 142</sup>. A gutta-percha, o hidróxido de cálcio e os materiais que contêm eugenol ou paraformaldeído são os que estão mais frequentemente associados a estas complicações<sup>53, 78, 142</sup>. Inversamente, a extrusão do MTA num dente necrosado com ápex aberto normalmente não produz complicações<sup>53, 73, 78, 89, 142</sup>. A baixa citotoxicidade e a indução de mineralização são duas propriedades deste biomaterial que devem explicar a sua capacidade bioregenerativa e a sua biocompatibilidade<sup>78</sup>. De acordo com Holland et al. (2007) irá ocorrer adesão e diferenciação celular com consequente deposição de tecido duro nas proximidades do MTA, com encerramento biológico do apex e ausência de inflamação dos tecidos periapicais<sup>89</sup>.

Um dos aspectos que pode estar relacionado com a maior possibilidade de extrusão do MTA é a medicação prévia com hidróxido de cálcio<sup>74, 89</sup>. Embora alguns autores refiram que a extrusão pode estar relacionada com o uso prévio de hidróxido de cálcio, outros autores dizem que essa medicação prévia pode até prevenir a extrusão, dada a acumulação de resíduos de pasta na zona apical, o que pode mecanicamente impedir a extrusão de material<sup>54, 74</sup>.

A reabsorção do MTA extruído é algo que tem sido bastante debatido e, embora o seu grau de solubilidade seja discutível, a literatura endodôntica defende uma relação entre o tempo e a libertação de iões cálcio do MTA<sup>78</sup>. O aumento da solubilidade tem sido referido nos estudos a longo prazo<sup>78</sup>.

Por outro lado, o *ratio* pó/água deve influenciar a solubilidade<sup>78</sup>. Um maior *ratio* de água aumenta a porosidade e a solubilidade do MTA e, de acordo com alguns autores, deve

umentar a libertação de iões cálcio do material<sup>78</sup>. A libertação destes iões pode ocorrer durante o contacto directo entre o MTA extruído e os fluidos tecidulares circundantes, o que deve ser parcialmente responsável pela reabsorção do biomaterial<sup>78</sup>. Apesar de tudo, Tahan et al. (2010) a propósito de um caso clínico, refere que a extrusão do MTA não causou sintomas e observou-se uma contínua formação de novo tecido ósseo no redor do material, apesar de não ter ocorrido uma reabsorção da porção de MTA extruído<sup>142</sup>.

Existem, no entanto, estudos que referem que a capacidade de selamento, resistência à tracção e dureza de superfície do MTA diminuem significativamente em ambientes ácidos<sup>93</sup>. Sendo assim, devido ao baixo pH no exsudado e pus das lesões periapicais, pode assumir-se que o MTA não adquire presa e a resposta dos tecidos a este material torna-se imprevisível<sup>93</sup>.

A extrusão do MTA na técnica da barreira apical é bastante frequente e difícil de evitar e, embora seja indesejável, não é considerada um problema em termos clínicos, dada a elevada biocompatibilidade do material já comprovada<sup>74</sup>. Já nos testes in vitro, de acordo com alguns autores e nomeadamente Hachmeister et al. (2002), logicamente a técnica de colocação do MTA via ortógrada revela-se mais sensível do que a técnica de colocação retrógrada em que a guta-percha que obtura o canal serve naturalmente de barreira para a própria condensação do MTA e daí também esta técnica oferecer melhores resultados nos testes in vitro de selamento<sup>75</sup>.

Assim sendo, na tentativa de oferecer uma barreira para a própria condensação do MTA, evitando assim a possível extrusão de material, alguns autores têm sugerido a utilização de uma matriz apical<sup>105, 142, 152</sup>. A utilização de uma matriz pode evitar a extrusão do MTA, favorecendo a resposta dos tecidos periodontais e ainda aumentar a capacidade de selamento do material já que oferece a possibilidade de uma melhor compactação<sup>105</sup>. Já foram testados vários materiais biocompatíveis com esta finalidade, entre os quais, o sulfato de cálcio, o fosfato tricálcico, mistura de fosfato de cálcio e colagénio, proteína osteogénica-1, factor de crescimento ósseo e celulose oxidada, proplast (material poroso à

base de politetrafluoretileno), hidróxido de bário, simples matriz de colagénio e mais recentemente a matriz de fibrina rica em plaquetas (conhecida por PRF, é uma matriz de fibrina autóloga que possui grandes quantidades de plaquetas e citocinas leucocitárias)<sup>93, 105, 152</sup>.

### 5.3 - MTA e a smear layer

A smear layer pode ser definida como uma camada amorfa, irregular e granular sob observação do Microscópio Electrónico de Varrimento (MEV) e resulta do preparo biomecânico dos canais radiculares<sup>68</sup>. Dado que a smear layer é formada por substâncias orgânicas e inorgânicas, é necessário combinar diferentes soluções irrigantes para que a sua remoção seja eficaz<sup>68</sup>. A utilização de um solvente para o tecido orgânico, como o hipoclorito de sódio, intercalado com um agente quelante, como o EDTA a 17%, é uma combinação possível para a desinfecção canal e remoção de todos os detritos da instrumentação<sup>68</sup>.

Relativamente à influência da smear layer na capacidade de selamento do MTA a controvérsia mantém-se e não existe consenso na literatura, não existindo ainda muitos dados disponíveis que possam fundamentar esta ocorrência<sup>68</sup>. As vantagens ou desvantagens da não remoção da smear layer ainda são motivo de grande discussão<sup>103</sup>. Por um lado a smear layer pode representar uma fonte potencial de bactérias aglomeradas e inseridas dentro dos tubulos dentinários, por outro lado o espaço criado pelo desaparecimento da smear layer pode servir como via aberta para a entrada de microorganismos<sup>103</sup>. Sabe-se que a presença da smear layer na dentina pode modificar a capacidade de selamento dos cimentos endodônticos<sup>103</sup>.

De acordo com um estudo de Araujo et al. (2013) a remoção de smear layer não tem influência na adaptação marginal do MTA, a não ser quando se associa essa remoção com uma vibração ultrassónica indirecta para compactação do material<sup>68</sup>.

Num estudo de Yildirin et al. (2008) avaliou-se a influência da smear layer na capacidade de selamento do MTA e os resultados demonstraram que a remoção do smear layer fez aumentar a quantidade de infiltração apical ao longo do canal obturado<sup>68, 103</sup>. Quando a smear layer estava ausente não se verificaram diferenças significativas na infiltração ocorrida em nenhum período de tempo avaliado, já quando a smear layer estava presente a infiltração apical foi significativamente menor a 1 e 6 meses<sup>68, 103</sup>.

Foi sugerido que estas diferenças podem ser devidas às propriedades hidrofílicas do MTA e ao tamanho das partículas deste material<sup>103</sup>. A smear layer pode actuar como agente de conexão, reforçando a ligação entre o MTA e a dentina<sup>103</sup>. Sendo o MTA um material hidrofílico que ganha presa num ambiente húmido e a smear layer uma camada húmida isso pode ter efectivamente um efeito positivo na obtenção de um ambiente propício para reforçar a adaptação do material às paredes dentinárias<sup>103</sup>. Por outro lado, vários estudos já demonstraram que o tamanho das partículas do MTA não permite a penetração destas partículas nos tubulos dentinários visto que estes túbulos apresentam um diâmetro inferior<sup>103</sup>. A penetração e obliteração das partículas do MTA não seria então possível nos casos em que se remove a smear layer e dessa forma não se converte numa vantagem a sua inexistência nas paredes do canal radicular para se efectuar a obturação com MTA<sup>103</sup>.

## 6 - A Biocompatibilidade do MTA

A biocompatibilidade do material MTA tem sido testada por estudos in vitro e in vivo<sup>125, 126, 130</sup>. Os resultados dos estudos in vitro mostram que o MTA é menos tóxico do que os outros materiais<sup>126, 130</sup>. Tem sido demonstrado que o MTA permite o crescimento de cimento e a

formação de osso e pode facilitar a regeneração de ligamento periodontal<sup>2, 102, 130, 140, 143, 145, 156, 157</sup>. O MTA induz a cementogénese por oferecer um substrato biologicamente activo aos osteoblastos, permitindo a adesão das células ósseas ao material<sup>156, 157</sup>.

A biocompatibilidade deste material é já um processo bem documentado e, a proteína morfogenética óssea (BMP-2) bem como o factor de transformação de crescimento (TGF  $\beta$ -1) podem ser dois importantes contribuintes para favorável resposta biológica estimulada pelo MTA nos tecidos periapicais<sup>158</sup>. Para além disso, também já foi demonstrado que o MTA promove a libertação de Interleucinas(ILs) pelos osteoblastos o que permite que a osteocalcina se torne activa<sup>140</sup>. A osteocalcina é uma proteína abundante presente no osso e é um indicador da produção de matriz óssea<sup>140</sup>.

Estes estudos demonstraram a biocompatibilidade do MTA, confirmando o papel deste material na promoção de um processo de cicatrização precoce, caracterizado, inicialmente, pela formação de tecido conectivo fibroso e, posteriormente, pela recuperação dos tecidos duros<sup>143</sup>.

O efeito deste material na actividade biossintética das células periapicais resulta, em primeiro lugar, na estimulação dos fibroblastos para a formação de tecido conectivo fibroso e o, conseqüente, rápido crescimento do ligamento periodontal, devido à sua elevada capacidade de cicatrização<sup>143</sup>.

A formação de tecido duro parece ser activada progressivamente, desde as paredes periféricas da raiz até ao centro do material obturador<sup>143</sup>. Tem sido sugerido que este processo de formação de tecido duro sobre o MTA pode ser efectuado por dois mecanismos:

. calcificação do tecido conectivo fibroso à medida que o tempo pós-cirúrgico aumenta;

. as células em diferenciação, para a formação de tecido duro, migram progressivamente entre a superfície do MTA e o tecido conectivo fibroso, activando a mineralização desde a raiz até ao MTA<sup>143</sup>.

## 7- Apexificação e MTA: que futuro?

Muitos clínicos se têm referido, consecutivamente, às dificuldades na manipulação do MTA, no sentido de ainda se encontrarem longe das ideais<sup>159-161</sup>. A consistência do preparo é difícil de manter devido ao início da reacção de presa que ocorre como resultado da dessecação da mistura MTA/água<sup>159, 161</sup>. Da mesma forma, a dificuldade em obter resultados consistentes no preparo do cimento, de acordo com as indicações do fabricante, também é um factor referido<sup>160</sup>. Isto resulta numa dificuldade aumentada na aplicação do produto durante o procedimento<sup>160</sup>. Por outro lado, o longo tempo de presa do MTA é outro dos aspectos referidos por vários autores como sendo uma das principais desvantagens do material<sup>159-161</sup>. Várias publicações têm sido feitas relacionadas com tentativas para melhorar a manipulação do MTA<sup>159</sup>.

Os materiais biocerâmicos foram recentemente introduzidos na endodontia principalmente como cimento de reparação e de obturação canal<sup>162</sup>. De acordo com os fabricantes, os materiais biocerâmicos possuem um pH alcalino, actividade antibacteriana, radiopacidade e biocompatibilidade<sup>162</sup>. Assim, as principais vantagens destes materiais estão relacionadas com as suas propriedades físicas e biológicas<sup>162</sup>. Outra vantagem que apontam a estes materiais é a sua capacidade de formar hidroxiapatite durante a sua reacção de presa, criando assim uma ligação entre a dentina e o material de selamento<sup>162</sup>.

O fabricante do EndoSequence Root Repair Material (ERRM; Brasseler USA, Savannah, GA) refere que este material apresenta propriedades físicas e mecânicas comparáveis ao MTA mas superiores capacidades de manipulação<sup>161</sup>. Segundo dizem, em condições normais, o seu tempo de trabalho é de cerca de 30 minutos e o tempo de presa cerca de 4

horas<sup>161</sup>. Tal como o MTA também é um material hidrofílico, sendo que a sua reacção de presa ocorre na presença de humidade<sup>161</sup>. Da sua composição fazem parte silicatos de cálcio, óxido de zircónio, óxido de tântalo, fosfato de cálcio monobásico e outros componentes de enchimento<sup>161</sup>. O óxido de zircónio é o componente responsável pela radiopacidade destes materiais<sup>161</sup>. Este material apresenta-se como um produto prémisturado numa seringa ou em forma de *putty*<sup>91</sup>.

Apesar de existirem poucos estudos independentes que possam suportar os dados apresentados sobre os materiais biocerâmicos, existem alguns que já podem ser referidos<sup>163</sup>. De acordo com Tuna et al. (2011) os dentes imaturos com apex aberto tratados com material biocerâmico apresentam uma maior resistência à fractura, comparados com o MTA e hidróxido de cálcio, ao final de 1 ano<sup>95</sup>. Também Nagas et al. (2012) refere que a força de adesão à dentina deste tipo de materiais é superior aos outros<sup>164</sup>. Estes resultados podem estar relacionados com as nanopartículas que compõem os materiais biocerâmicos, permitindo a sua entrada nos tubulos dentinários, interagindo com a humidade existente na dentina e assim criar uma adesão micromecânica<sup>91, 160</sup>. Segundo Caronna et al. (2014), tanto o MTA como a biocerâmica conseguem absorver a humidade adequada do ambiente periapical para completar a sua reacção de presa<sup>91</sup>. Contudo, segundo Damas et al. (2012) o tempo de presa deste material não corresponde às 4 horas referidas pelo fabricante pois, de acordo com o seu estudo, só conseguiu obter uma presa total após 168 horas<sup>160</sup>.

Em relação à citotoxicidade e biocompatibilidade deste material os resultados já existentes de alguns estudos *in vitro* apontam para níveis muito semelhantes aos apresentados pelo MTA<sup>159, 160, 163, 165, 166</sup>. De acordo com Lovato e Sedgley (2011), também relativamente à capacidade antibacteriana os materiais biocerâmicos revelam capacidades muito semelhantes ao MTA já que, no seu estudo *in vitro*, tanto a forma de aplicação em seringa como o *putty*, demonstraram efeitos antibacterianos contra o *E. faecalis* muito similares ao MTA<sup>167</sup>.

Também em relação à capacidade de selamento, através de um modelo de infiltração de bactérias (*E. faecalis*) e de um modelo de infiltração de glucose, não foram obtidas

diferenças estatisticamente significativas entre os resultados da biocerâmica e do MTA<sup>161, 168</sup>. Já relativamente à adaptação marginal dos dois materiais, através da utilização de um microscópio electrónico de varrimento, foi possível observar imagens muito parecidas, sem diferenças significativas relativamente aos valores do tamanho das falhas de adaptação entre os materiais e as paredes dentinárias<sup>169</sup>. Apesar deste material se apresentar como uma alternativa bastante promissora relativamente ao MTA, todos os autores aconselham alguma prudência na interpretação dos resultados e aconselham vivamente a realização de mais estudos.

O sucesso de uma apexificação está dependente da formação de tecido duro no apex do dente por células que se diferenciam de acordo com sinais específicos para se tornarem células capazes de formarem cimento ou matriz orgânica osteodentinária<sup>170</sup>.

Apesar do objectivo da apexificação ser a estimulação da formação dessa barreira apical, acreditando que a contínua formação radicular não pode ocorrer, existem vários relatos de um contínuo desenvolvimento apical apesar da necrose pulpar existente<sup>154, 170</sup>.

Já foram referidos casos de um contínuo desenvolvimento radicular após tratamento de apexificação com hidróxido de cálcio e com MTA e nesses casos a bainha epitelial de Hertwig (HERS) parece desempenhar um papel fundamental, sobrevivendo ao trauma, inflamação e tratamento endodôntico<sup>154, 170</sup>. Sabe-se que a HERS é responsável pelo desenvolvimento da raiz e, os remanescentes vitais desta bainha que permanecem após tratamento de dentes imaturos necrosados, devem organizar o tecido mesodérmico apical em componentes radiculares, sob condições favoráveis<sup>170</sup>.

Adicionalmente, foram relatados outros casos de dentes imaturos necrosados que desenvolveram apexogénese após medicação com pasta de combinação antibiótica<sup>154</sup>. As células estaminais da papila apical (SCAP) devem sobreviver à infecção e possibilitar a maturação radicular<sup>154</sup>. A descoberta das células SCAP e a possibilidade da apexogénese em dentes imaturos necrosados conduzem-nos possivelmente a uma mudança de paradigma na abordagem do tratamento e merece atenção da investigação futura<sup>154</sup>.

## **8 – Epílogo da revisão bibliográfica**

A revisão demonstra que o MTA tem vindo a ser alvo de vários estudos no âmbito das suas várias aplicações clínicas.

Enquanto material para utilização em casos de dentes imaturos com ápices abertos tem sido estudado e submetido a inúmeros e variados cenários possíveis na tentativa de aperfeiçoar a técnica e obter o maior sucesso possível.

Não se sabe, no entanto, dada a grande variabilidade no diâmetro dos canais e em particular no apex, qual a influência desse diâmetro apical na capacidade de selamento do MTA e na sua adaptação às paredes radiculares, quando este material é utilizado para promover a barreira apical. A quase inexistência de estudos nesta área está na base deste trabalho.

## OBJECTIVOS

### 1 - Objectivo Geral

Caracterizar a adaptação marginal do MTA às paredes dos canais radiculares em raízes com ápices abertos.

### 2 - Objectivos Específicos

2.1-Medir a infiltração apical de um corante no terço apical de dentes que simulam a presença de ápices abertos quando são obturados com MTA, através da observação com um microscópio confocal a laser.

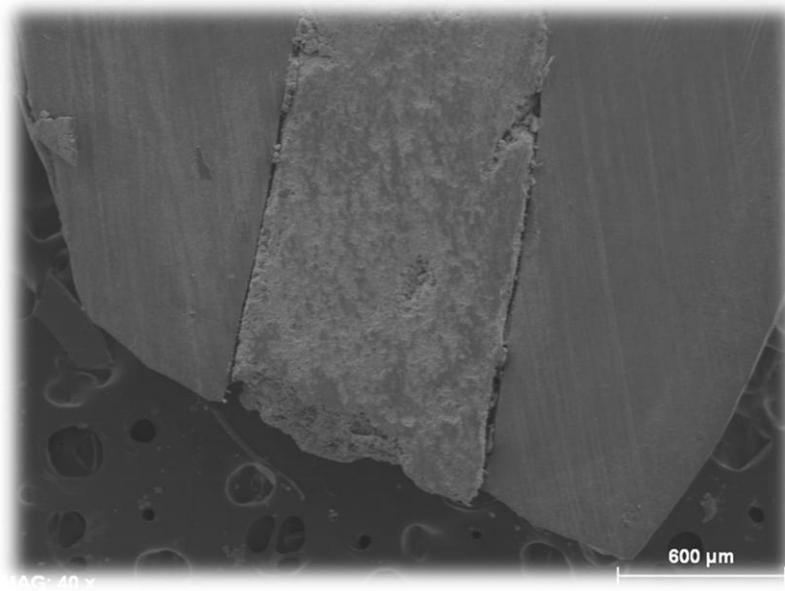
2.2-Estabelecer a penetração máxima de um corante no interior dos túbulos dentinários nos casos de infiltração de corante em dentes que simulam a presença de ápices abertos quando são obturados com MTA, através da observação com um microscópio confocal a laser.

2.3-Medir o ajuste do MTA às paredes do canal desde o seu extremo apical mediante a observação com microscópio electrónico de varrimento, registando a desadaptação máxima.

2.4- Determinar a influência do diâmetro apical sobre a adaptação marginal do MTA às paredes dos canais radiculares.

2.5-Comparar os resultados proporcionados pelas duas técnicas microscópicas de observação utilizadas.





## METODOLOGIA

## 1 – Pesquisa bibliográfica

A pesquisa bibliográfica foi efectuada pela internet, através do motor de busca da PubMed MEDLINE, com as palavras passe: “MTA”, “*Mineral Trioxide Aggregate*”, “*apexification*”, “*immature teeth*”, “*open apex*” e “*apical plug*”, sem limites de datas. Foram utilizados os artigos apenas escritos em língua inglesa. Esta pesquisa foi complementada através de uma busca em revistas científicas de relevância na área, não indexadas na PubMed.

Adicionalmente, foi utilizada a categoria “*related articles*” nos artigos encontrados na PubMed, para completar a pesquisa bibliográfica. Foram ainda obtidos e utilizados alguns artigos, cuja referência foi feita no texto de artigos resultantes da pesquisa inicial, por conterem informação adicional de especial interesse para complementar o tema.

## 2 - Materiais

### 2.1 – Amostra

#### 2.1.1 – Tamanho da amostra

Foram utilizados 66 dentes unirradiculares, extraídos e armazenados em solução de formol a 10%. Vinte e quatro horas antes da sua utilização foram lavados em água corrente até à sua manipulação, para eliminação de qualquer vestígio de formol remanescente (fig. 1).

#### 2.1.2- Critérios de inclusão

A existência de um único canal radicular, condição necessária para o emprego da metodologia proposta neste trabalho, foi certificada por meio de radiografias tiradas no sentido méso-distal do dente e exploração do canal com lima K nº 10. Nenhuma raiz apresentava qualquer tipo de cárie, reabsorção, fractura, tratamento endodôntico ou ápex aberto.



**Figura 1** – Amostra

## 2.2 – Instrumentos

### 2.2.1 – Motor endodôntico

O preparo biomecânico dos canais foi efectuado através da utilização do motor endodôntico X-Smart (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) a uma velocidade constante de 250 rpm e um torque de 2,0 Ncm (fig. 2).



**Figura 2** – Motor endodôntico X-Smart

### 2.2.2- Limas

Foram utilizadas limas manuais K-File<sup>®</sup> nº10 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça), de conicidade .02, seguidas de limas de instrumentação contínua do sistema Protaper<sup>®</sup> Universal (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça), com conicidade progressiva, Sx de conicidade entre .035 e .19, S1 de conicidade entre .02 e .11, S2 de conicidade entre .04 e .115, F1 de conicidade entre .07 e .055 e F2 de conicidade entre .08 e .055. As limas K-File<sup>®</sup>, de aço inoxidável, possuem ângulo de corte positivo, secção triangular e ponta não cortante. O sistema Protaper<sup>®</sup> universal, de níquel-titânio, possuiu ângulo de corte negativo, secção triangular convexa e ponta não cortante (fig. 3).



Figura 3 – Limas Protaper<sup>®</sup> e limas K

### 2.2.3- Máquina de desgaste

Todos os dentes foram cortados com uma máquina de desgaste Grinder/Polisher Model 900 (South Bay Technology, San Clemente, USA). Foram utilizados 3 discos abrasivos (Wolfcraft GmbH, Kempenich, Germany), resistentes à água, de diferentes níveis abrasivos (de maior a menor grão, 80, 320 e 1000) passando em último lugar um quarto disco, de feltro, juntamente com uma pasta abrasiva, para polir as superfícies (fig. 4).



**Figura 4** – Máquina de desgaste Grinder/Polisher Model 900

#### 2.2.4- Aplicador de MTA

Foi utilizado o sistema “MTA Gun System” ou “ProRoot MTA Delivery Gun” (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) para se conseguir de uma forma mais precisa colocar o MTA na zona apical do canal (fig. 5).



**Figura 5** – ProRoot® MTA Delivery Gun

### 2.2.5- Condensadores verticais

Foram utilizados condensadores verticais (VDW, Munich, Germany), para a condensação do MTA (fig. 6).

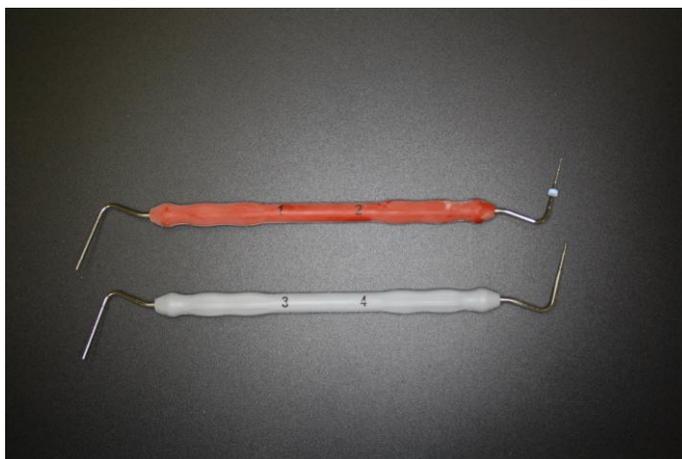


Figura 6 – Condensadores Verticais

### 2.3 –Material de Obturação

O material de obturação utilizado para este estudo foi o MTA – “Mineral Trioxide Aggregate” (ProRoot® MTA; Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland). Foi utilizada a fórmula branca deste material visto a fórmula cinzenta não estar a ser comercializada (fig. 7).

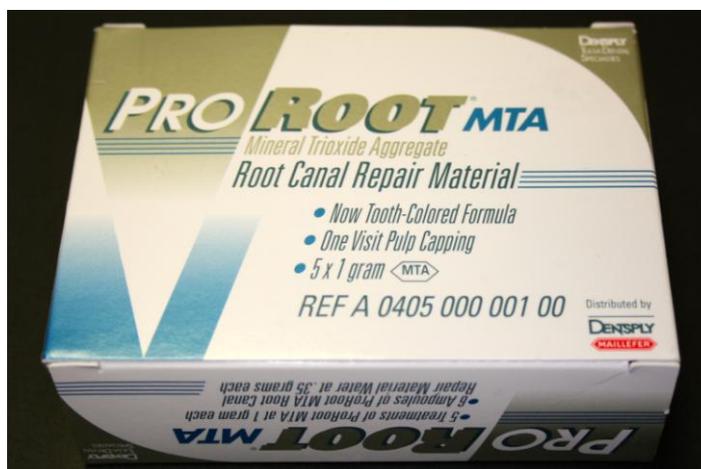


Figura 7 – ProRoot® MTA

## 2.4 – Corante

Foi utilizada uma solução de Rodamina B isotiocianato (C.I. 45170), de fórmula química  $C_{28}H_{31}ClN_2O_3$  (Sigma-Aldrich, St Louis State, MO, USA).

## **3 – Procedimento**

### 3.1 – Preparação da amostra

Foram realizadas cavidades de acesso em todos os dentes e com uma lima K nº10 efectuou-se a permeabilização de toda a extensão do canal, assim como do foramen apical. O comprimento de trabalho foi determinado introduzindo a lima até ser visível a nível do foramen apical.

### 3.2 – Preparação Biomecânica

Todos os canais foram instrumentados pela técnica de rotação contínua, com o sistema Protaper<sup>®</sup> (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland), seguindo a sequência definida para o sistema até à lima F3, seguido de instrumentação manual conforme estabelecido para cada um dos grupos de estudo com sobreinstrumentação na instrumentação manual de 2mm.

Durante a instrumentação todos os canais foram irrigados com hipoclorito de sódio a 5,25% (manipulado em laboratório) entre limas, finalizando a irrigação com EDTA a 17% (manipulado em laboratório), seguido de hipoclorito de sódio, para remoção do smear layer.

### 3.3 - Grupos de estudo

Após a instrumentação dos canais através da técnica de rotação contínua definida realizou-se uma instrumentação manual a partir da lima K nº 35 até às limas K nº 60, 80 e 100 distribuindo desta forma a amostra pelos 3 grupos de estudo:

**Grupo A:** 20 dentes instrumentados segundo a técnica de rotação contínua definida, seguida de instrumentação manual até lima K nº 60 com sobreinstrumentação de 2mm.

**Grupo B:** 20 dentes instrumentados segundo a técnica de rotação contínua definida, seguida de instrumentação manual até lima K nº 80 com sobreinstrumentação de 2mm.

**Grupo C:** 20 dentes instrumentados segundo a técnica de rotação contínua definida, seguida de instrumentação manual até lima K nº 100 com sobreinstrumentação de 2mm.

**Grupo D (grupo de controlo):** 6 dentes instrumentados de acordo com a técnica acima referida dos quais 2 foram instrumentados até lima K nº 60, 2 até lima K nº 80 e os outros 2 até lima K nº 100.

### 3.4 - Obturação

O MTA foi preparado de acordo com as instruções do fabricante. Imediatamente após a preparação, o MTA foi aplicado no interior do canal com a ajuda do sistema “ProRoot® MTA Delivery Gun” e condensado através de condensadores verticais. Foram utilizados cones de papel de tamanho 80 para ajudar na condensação, empurrar excessos de MTA que ficavam

nas paredes do canal para a zona apical e remover excessos de humidade. Este método de condensação foi repetido até serem criados cerca de 6mm de barreira apical de MTA para permitir a posterior obtenção de cortes transversais até aos 5mm. Para ajudar na medição utilizou-se um condensador vertical com stop colocado a 6 mm do comprimento de trabalho (CT) e fez-se controlo radiográfico regularmente. No controlo radiográfico quando se verificaram hiatos na condensação, todo o material foi removido e o processo novamente repetido. Após a condensação foi colocada uma bola de algodão húmida na entrada do canal, a cavidade de acesso selada com o material de restauração provisório Cavit® (3M ESPE, St Paul, MN, EUA) e os dentes colocados num meio com 100% humidade durante 24h enquanto ocorre a reacção de presa do MTA. Neste processo de obturação os dentes foram colocados numa base de alginato com uma bola de algodão húmido a envolver a ponta da raiz para simular a zona periapical.

### 3.5 – Observação e análise

A superfície externa dos dentes foi totalmente impermeabilizada com uma camada de cola de cianoacrilato seguido de verniz das unhas, com excepção dos últimos 2 mm apicais.

Para o controlo existe um controlo positivo e um negativo. Foram utilizados 6 dentes, 2 deles foram instrumentados como descrito no grupo A, outros 2 como no grupo B e os restantes 2 como no grupo C. De cada dois dentes destes, um foi impermeabilizado de forma semelhante a todos os dentes mas não foi obturado com MTA (controlo positivo), e o outro foi totalmente impermeabilizado, inclusive o foramen apical, após obturação com MTA (controlo negativo). Em cada grupo de estudo utilizou-se um dente para controlo positivo e outro dente para controlo negativo e assim, como temos 3 grupos de estudo, existem 6 dentes para controlo.

A amostra foi colocada num modelo de penetração de corantes com uma solução de Rodamina B. Fizeram-se buracos em vários frascos de plástico e os dentes foram fixados nos buracos com cianoacrilato, com os 2mm do apex para o interior dos fracos. Colocou-se solução de Rodamina B a 0,1% (10gr por litro) nos frascos de modo a cobrir a totalidade do apex durante um período de 48h a 37°C. Isto permite posteriormente identificar a entrada de corante nas preparações, observadas através de microscopia confocal, com uma cor vermelha.

Os canais foram seccionados longitudinalmente em cortes de 1mm de espessura com a máquina de desgaste Grinder/Polisher 900. Para isso utilizaram-se 3 discos abrasivos, resistentes à água, de diferentes níveis abrasivos (de maior a menor grão, 80, 320 e 1000) passando em último lugar um quarto disco, de feltro, juntamente com uma pasta abrasiva, para polir as superfícies.

O dente depois de seccionado colocou-se numa lâmina de vidro e colou-se com um sistema adesivo *ad hoc* (Eukitt – O.Kindler GmbH, Freiburg, Germany).

Os cortes foram utilizados para a leitura da infiltração apical com um microscópio confocal a laser e posteriormente com um microscópio electrónico de varrimento.

### 3.5.1 – Microscópio confocal a laser

O microscópio utilizado foi o Leica TCS SP2 com o software LCS (fig. 8).

É um tipo de microscópio de fluorescência mas a sua excitação é através de laser e não de lâmpadas. Este microscópio de fluorescência confocal, ao contrário do de fluorescência convencional, permite-nos fazer secções ópticas da amostra e assim ver o plano que se deseje (plano Z), obtendo imagens de maior nitidez e contraste, maior resolução vertical e horizontal, conseguindo também imagens tridimensionais.

O princípio da microscopia confocal baseia-se em eliminar a luz reflectida ou fluorescente

procedente dos planos fora de foco. Para isso ilumina-se uma pequena zona da amostra e capta-se o feixe luminoso que provém do plano focal, eliminando-se os feixes procedentes dos planos inferiores e superiores.

O funcionamento básico é o seguinte: a luz procede de um laser que atravessa o *pinhole* de iluminação, é reflectida mediante um espelho dicróico e focada num ponto do espécime através da objectiva. O sinal emitido pelo ponto iluminado (fluorescência ou luz reflectida) volta pelo mesmo caminho óptico, passa através do espelho e é focado num fotomultiplicador pelo *pinhole* de detecção que elimina o sinal procedente da zona fora de foco. Um conjunto de filtros de emissão colocados à frente do fotomultiplicador permite seleccionar o comprimento de onda de emissão do fluoróforo desejada. A luz emitida é recolhida num fotomultiplicador onde se transforma num sinal de vídeo. Outros sistemas permitem recolher os diferentes comprimentos de onda e com conversores analógico-digitais transformam os sinais de vídeo em imagens digitais.



**Figura 8** – Microscópio confocal a laser

Para a observação com este microscópio utilizou-se o corante fluorescente Rodamina B a 0,1% (na solução de 10gr por litro de soro fisiológico). Este corante é um pó de cor verde que, quando se excita, dá origem a uma cor vermelha nas imagens.

Toda a amostra foi observada com este microscópio. Captaram-se imagens de todos os espécimes com a objectiva de 20 aumentos, trabalhando com as projecções máximas do microscópio, ou seja, as emissões máximas de luz emitidas pelos fluorocromos num mesmo plano captados pelos lasers do microscópio confocal. O laser utilizado para a captação da rodamina (derivado isotiocianato - TRITC) foi de Ar/HeNe com um comprimento de onda de 543nm.

As imagens fotográficas digitais foram obtidas através do programa Leica Confocal Software (Leica Microsystems Heidelberg GmbH) *versão 2.6 build 1538 Lcs Lite*, e foram utilizadas para visualizar e medir o grau de penetração do corante na interface MTA-dentina. Foi seleccionada a zona de cada imagem que apresentava maior infiltração de corante ao longo da interface. A medição da infiltração foi feita no sentido longitudinal, ou seja, desde o apex até à zona coronal.

### 3.5.2 –Microscópio electrónico de varrimento

O microscópio utilizado foi o Hitachi S-4100, Orochimaru, Tokio, Japão (fig. 9).

O microscópio electrónico de varrimento (MEV) caracteriza-se por bombardear as preparações mediante uns electrões emitidos por um tubo emissor de electrões. Quando estes chocam com a amostra, emitem uma série de múltiplas radiações e em função daquela que nos interesse em cada caso, é captada e proporciona uma imagem. A radiação aproveitada no nosso caso foi a do electrão secundário. As imagens digitais foram captadas por computador.



**Figura 9** – Microscópio Electrónico de Varrimento

Toda a amostra foi observada com este microscópio e para isso foram colocados os cortes em placas de suporte de alumínio específicas para MEV (fig. 10). Colocaram-se umas bandas adesivas sobre os suportes e fixaram-se os cortes de cada espécime para observação (cerca de 3 ou 4 cortes por suporte). Por último levaram-se os suportes com os cortes fixados para uma máquina de recobrimento de metais pesados (metalizadora) SC7640 Auto/Manual High Resolution Sputter Coater, e revestiram-se as placas com um “filme” de ouro-paládio (técnica de pulverização iónica – *sputtering*), com a finalidade de captar os electrões emitidos por MEV e proporcionar as imagens.



**Figura 10** – Exemplo de uma placa de vidro para observação ao microscópio confocal e suporte com cortes após metalização para observação no MEV.

Obtiveram-se imagens de todas as barreiras apicais a 40 aumentos e especificamente em cada corte das zonas de maior falta de adaptação a 300 aumentos. Com as imagens foi possível observar a interface entre o MTA e as paredes do canal, sendo assim visíveis as zonas com falhas de adaptação do material. Com essas imagens foram medidas as desadaptações através da utilização do programa Image J. Por cada corte foi seleccionada a zona de maior desadaptação e as medições das desadaptações foram feitas no sentido transversal, ou seja, do material para a parede.

Todos os dados foram analisados estatisticamente.

#### **4 – Análise Estatística**

Para descrever os dados do estudo foram utilizadas estatísticas descritivas apropriadas. As variáveis categóricas foram descritas através de frequências absolutas (n) e relativas (%), as variáveis contínuas foram descritas utilizando medianas, mínimo e máximo, uma vez que a distribuição destas é assimétrica.

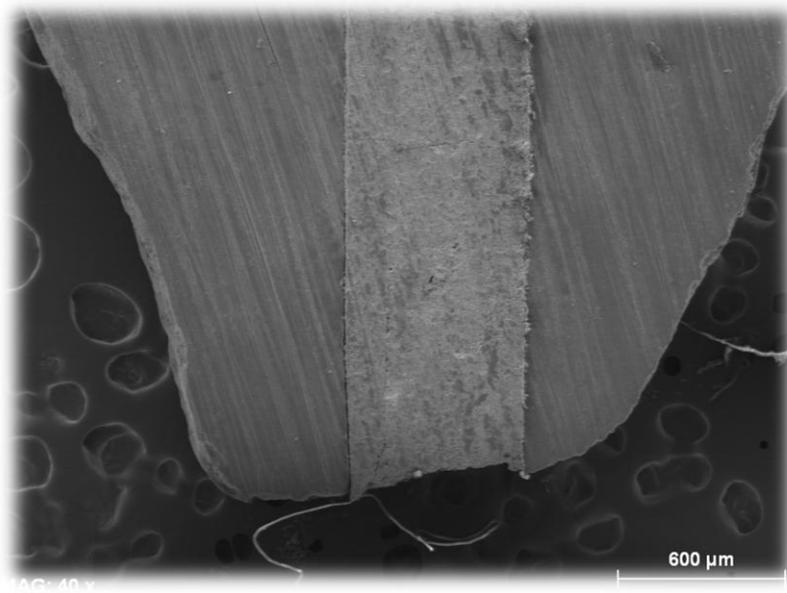
Para relacionar o nível de infiltração de corante (representado em milímetros) e a adaptação marginal (representada em micrómetros) nos diferentes calibres utilizados (60, 80 e 100) foram aplicados o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (£) para comparações entre os 3 tipos de calibre e o teste não-paramétrico de Mann-Whitney (§) para comparações entre os calibres dois a dois, uma vez que estas duas variáveis contínuas apresentam distribuição assimétrica.

De forma a estudar as associações entre o nível de infiltração e a adaptação marginal para os calibres 60, 80 e 100, foram calculados os coeficientes de correlação de Spearman, sendo apresentados os respectivos diagramas de dispersão.

Em todos os testes de hipóteses foi considerado um nível de significância de 0,05 ( $\alpha=5\%$ ).

Todos os dados foram inseridos e a análise foi efectuada utilizando o programa de análise estatística SPSS® v.18.0 (*SPSS inc. Released 2009. PASW Statistics for Windows, V.18.0. Chicago, USA*).





## RESULTADOS E ARGUMENTAÇÃO

## DESCRIÇÃO DOS RESULTADOS

### 1 – Resultados da análise descritiva

Depois de se efectuarem as medições da infiltração apical de corante (mm), através das imagens digitais obtidas por microscopia confocal a laser e da desadaptação máxima do MTA às paredes radiculares ( $\mu\text{m}$ ), através de imagens digitais obtidas por MEV, fizeram-se tabelas para os resultados de cada diâmetro apical (Tabela 1, 2 e 3).

#### 1.1 – Grupo A: apex de calibre 60

Amostra	Infiltração apical (mm)	Desadaptação máxima ( $\mu\text{m}$ )
1	2	0
2	1.57	125
3	X	X
4	4.41	173
5	1.67	32
6	5	0
7	1.68	15
8	1.5	34
9	5	0
10	2.5	X
11	1.5	X
12	1	0
13	4	82
14	2	0
15	1.78	0
16	1.5	0
17	3	34
18	2.27	21
19	2.5	15
20	4	104
Média	2.57	37.35
Penetração tubular máxima de corante = 1050 $\mu\text{m}$		

X = corte excluído

**Tabela 1** – Infiltração apical de corante, observada em microscópio confocal a laser e desadaptação máxima de MTA, observada por MEV em apex de calibre 60

1.2 – Grupo B: apex de calibre 80

Amostra	Infiltração apical (mm)	Desadaptação máxima (µm)
1	4.5	78
2	1	92
3	4.7	88
4	1.5	39
5	4	46
6	2.6	33
7	4	136
8	2.25	0
9	3	141
10	3.51	81
11	3	22
12	2	0
13	3.35	74
14	3.32	93
15	4.26	X
16	3.58	88
17	3.2	147
18	3.6	156
19	3.5	X
20	1	20
Média	3.09	74.11
Penetração tubular máxima de corante = 1479 µm		

X = corte excluído

**Tabela 2** – Infiltração apical de corante, observada em microscópio confocal a laser e desadaptação máxima de MTA, observada por MEV em apex de calibre 80

1.3 – Grupo C: apex de calibre 100

Amostra	Infiltração apical (mm)	Desadaptação máxima (µm)
1	4.5	93
2	X	0
3	1	42
4	3.61	64
5	3.7	51
6	5	156
7	1	44
8	3	0
9	5	52
10	1	80
11	5	93
12	5	84
13	5	52
14	2.5	X
15	3.99	94
16	1.87	122
17	1	83
18	1	84
19	4.6	X
20	4.8	83
Média	3.29	75.12
Penetração tubular máxima de corante = 1150 µm		

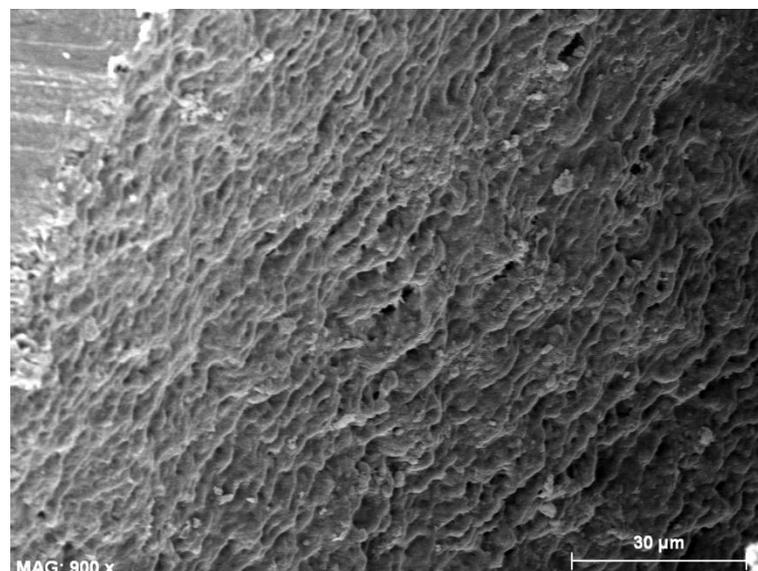
X = corte excluído

**Tabela 3** – Infiltração apical de corante, observada em microscópio confocal a laser e desadaptação máxima de MTA, observada por MEV em apex de calibre 100

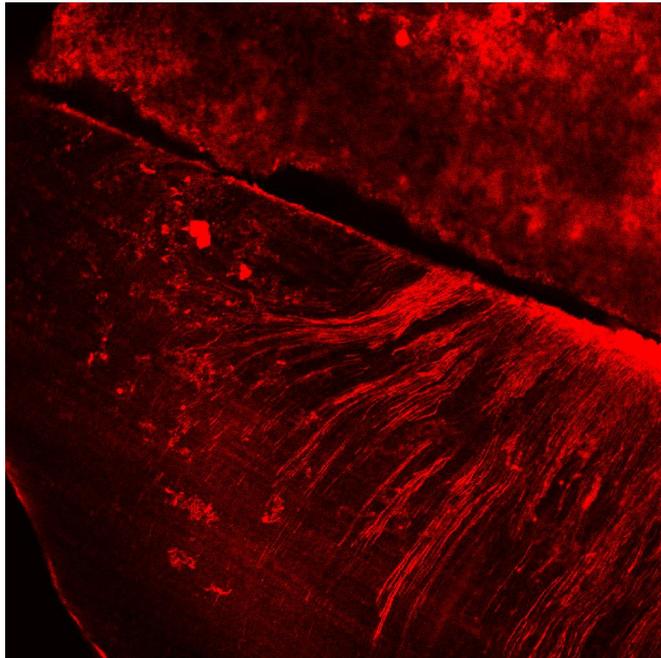
Após o registo dos valores de infiltração de corante na interface entre a barreira apical de MTA e as paredes radiculares, obtidos através das imagens fornecidas pelo microscópio confocal a laser, foi possível observar que o valor médio de infiltração aumentou à medida que se aumentou também o diâmetro apical (tab. 1, 2 e 3).

Através de imagens digitais fornecidas pelo MEV, foi possível observar e registar os valores de desadaptação máxima do MTA às paredes radiculares nos diferentes diâmetros apicais. Os valores médios de desadaptação do MTA são menores no grupo de apex com calibre 60 comparativamente aos outros 2 grupos (tab. 1, 2 e 3).

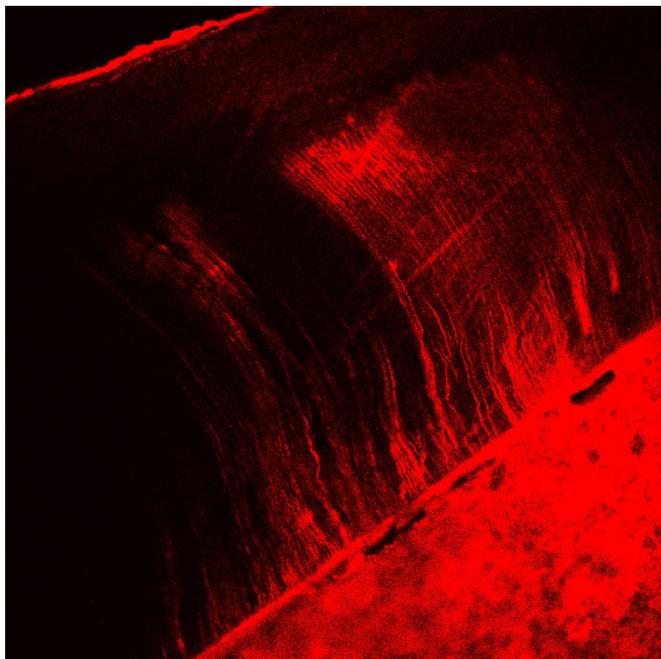
Para além do registo dos valores de infiltração apical de corante, através do microscópio confocal a laser foi possível também observar e registar os valores de penetração máxima de corante nos túbulos dentinários (Fig. 12 e 13). Apesar de nem sempre visível em todos os cortes, foi possível registar um nível máximo de penetração tubular de 1479  $\mu\text{m}$ .



**Figura 11** - Fotomicrografia obtida por MEV da superfície interna da parede radicular onde são visíveis alguns túbulos dentinários abertos (ampliação de 900X)



**Figura 12** - fotomicrografia digital obtida por microscopia confocal a laser da máxima penetração tubular de corante (ampliação de 20X)



**Figura 13** – fotomicrografia digital obtida por microscopia confocal a laser da máxima penetração tubular de corante (ampliação de 20X)

Fotomicrografias obtidas pelo MEV da adaptação da barreira apical de MTA em apex de calibre 60 (ampliação de 40X):

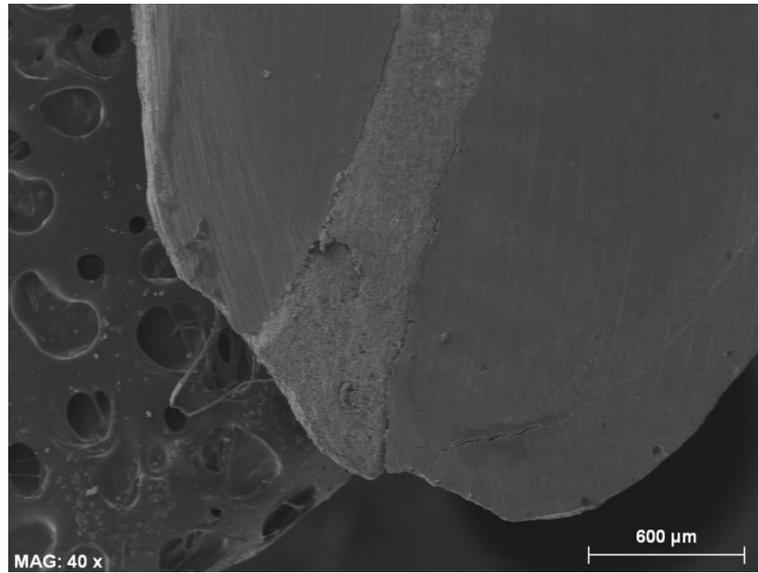


Figura 14

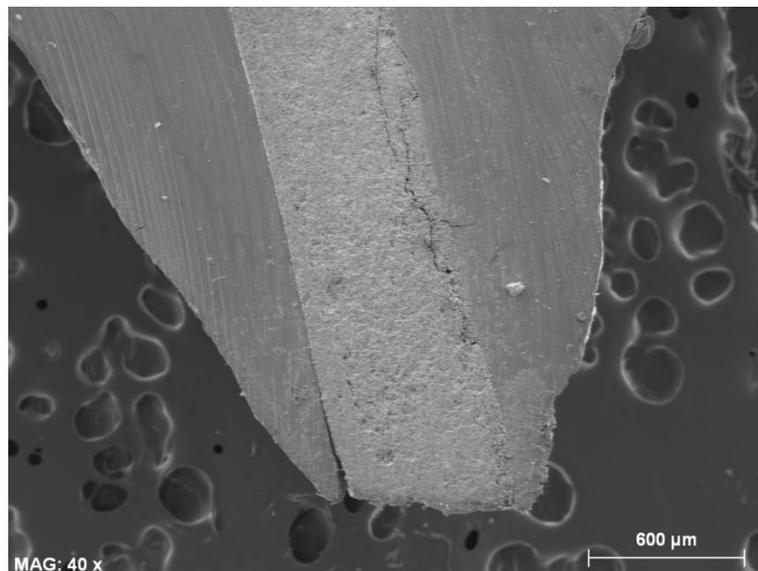
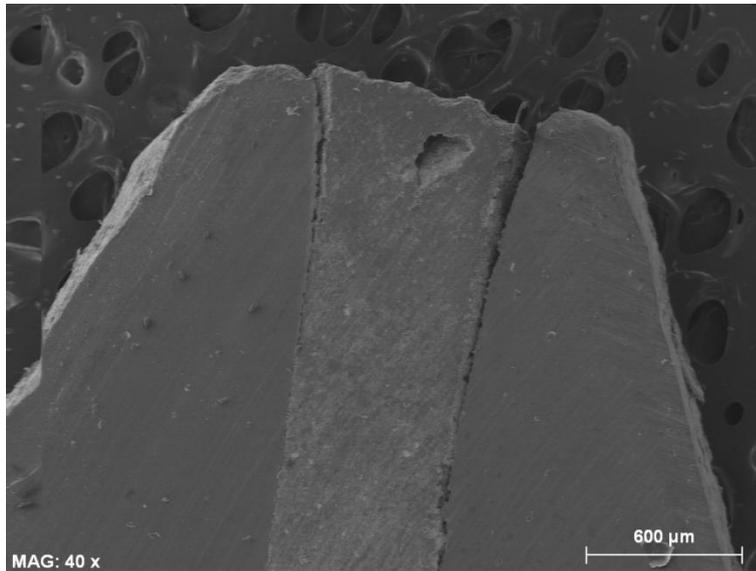
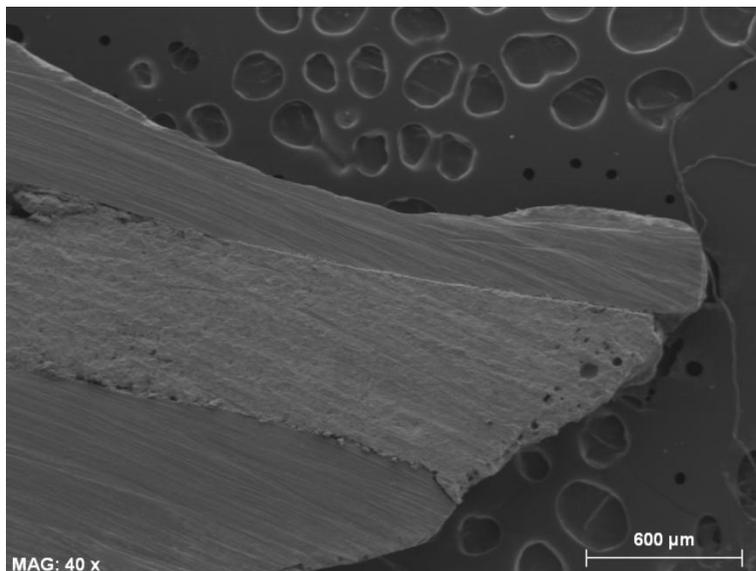


Figura 15

Fotomicrografias obtidas pelo MEV da adaptação da barreira apical de MTA em apex de calibre 80 (ampliação de 40X):



**Figura 16**



**Figura 17**

Fotomicrografias obtidas pelo MEV da adaptação da barreira apical de MTA em apex de calibre 100 (ampliação de 40X):

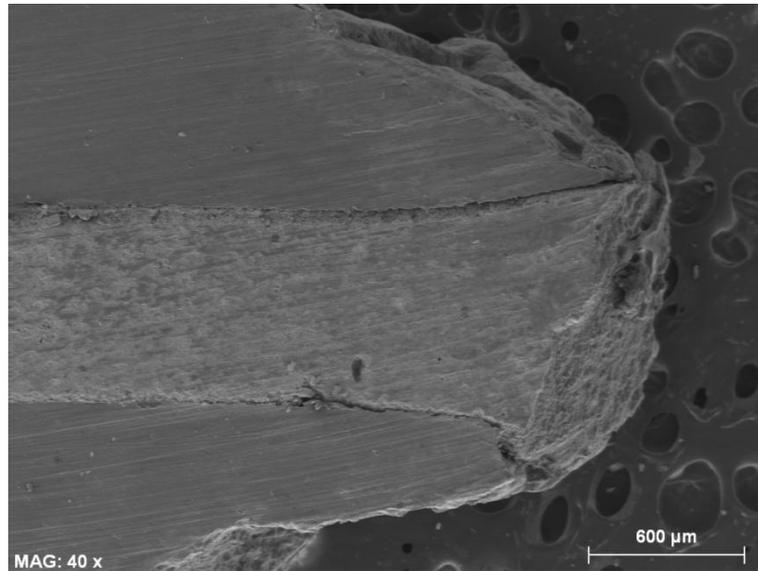


Figura 18

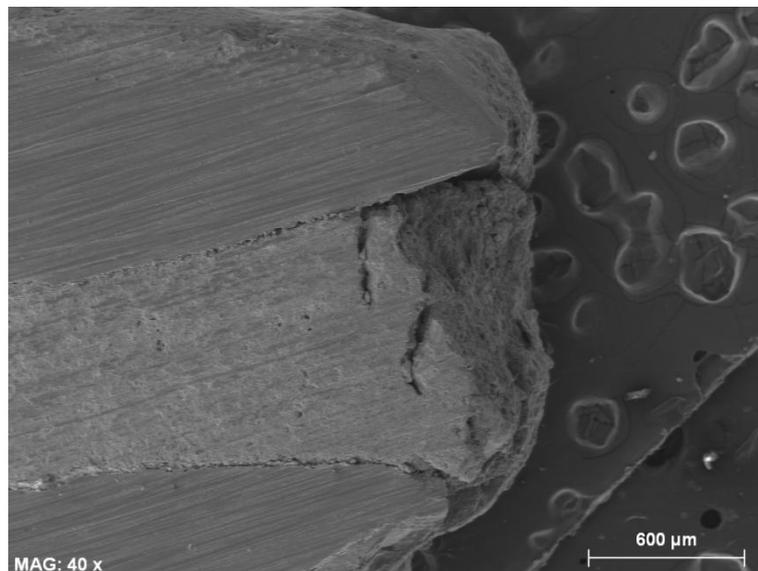
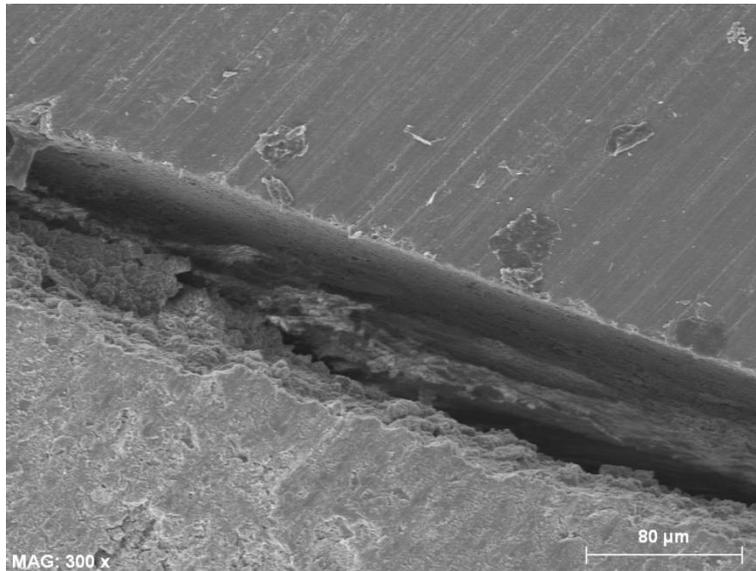
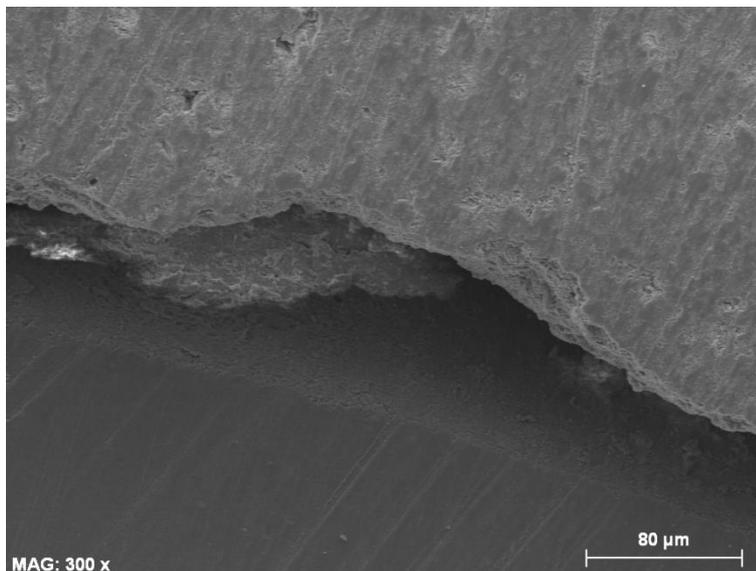


Figura 19

Fotomicrografias obtidas pelo MEV de zonas de desadaptação máxima do MTA às paredes radiculares em apex de calibre 60 (ampliação de 300X):



**Figura 20**



**Figura 21**

Fotomicrografias obtidas pelo MEV de zonas de desadaptação máxima do MTA às paredes radiculares em apex de calibre 80 (ampliação de 300X):

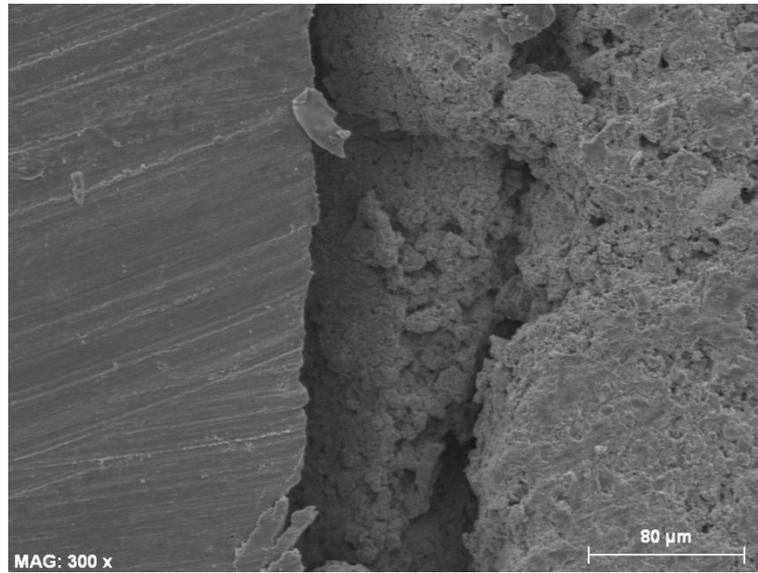


Figura 22

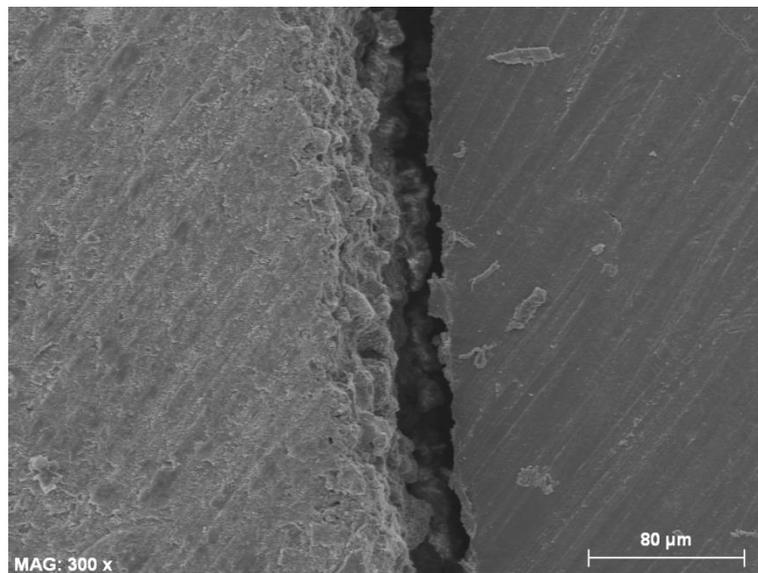
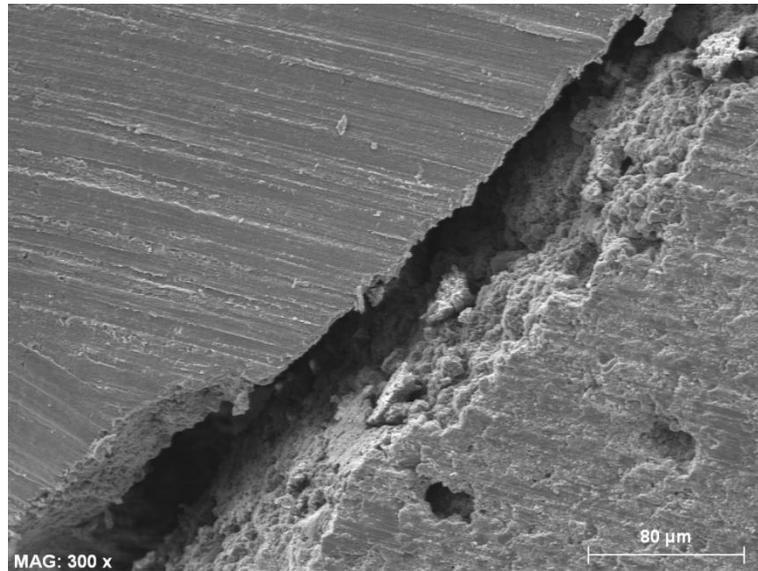
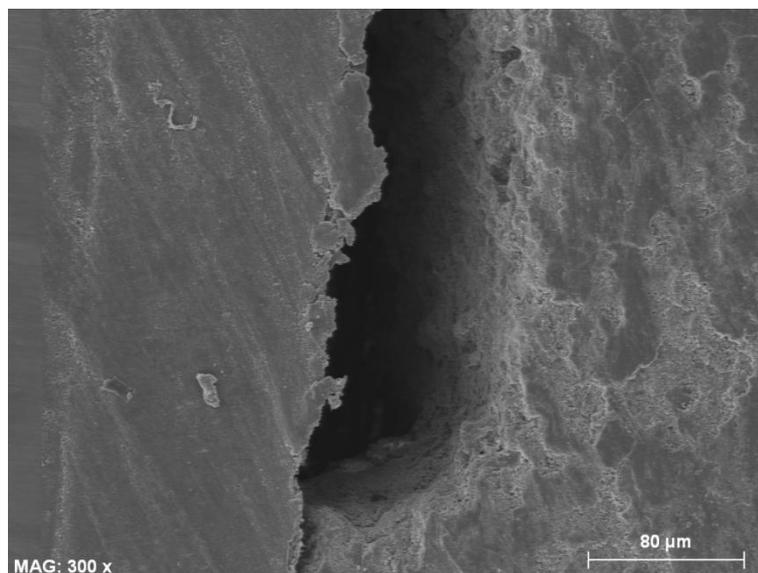


Figura 23

Fotomicrografias obtidas pelo MEV de zonas de desadaptação máxima do MTA às paredes radiculares em apex de calibre 100 (ampliação de 300X):

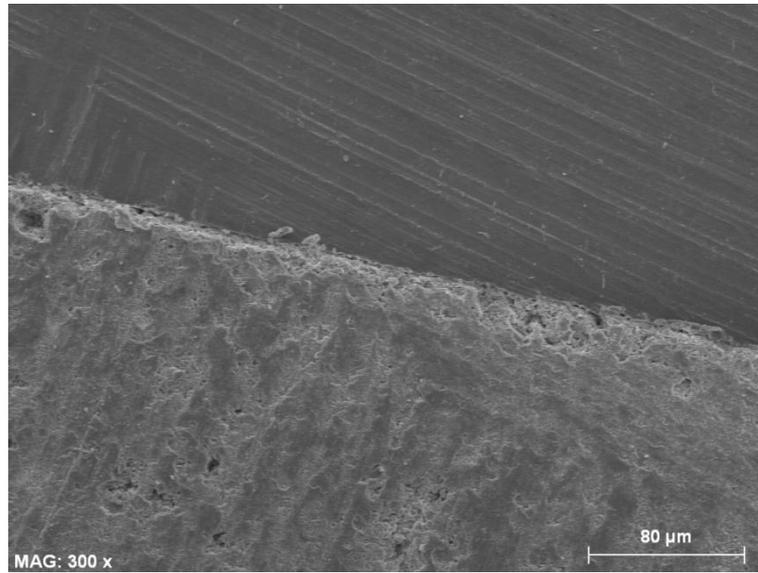


**Figura 24**

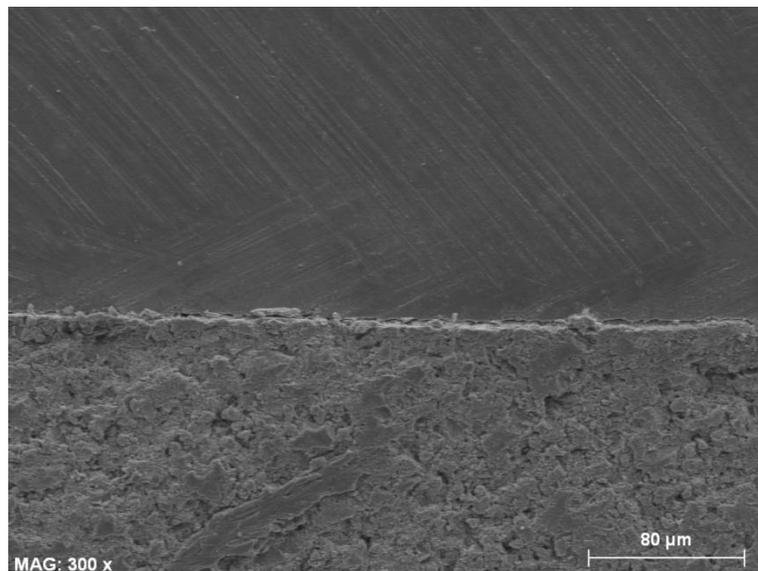


**Figura 25**

Fotomicrografias obtidas pelo MEV de zonas de adaptação máxima do MTA às paredes radiculares em apex de calibre 60 (ampliação de 300X):

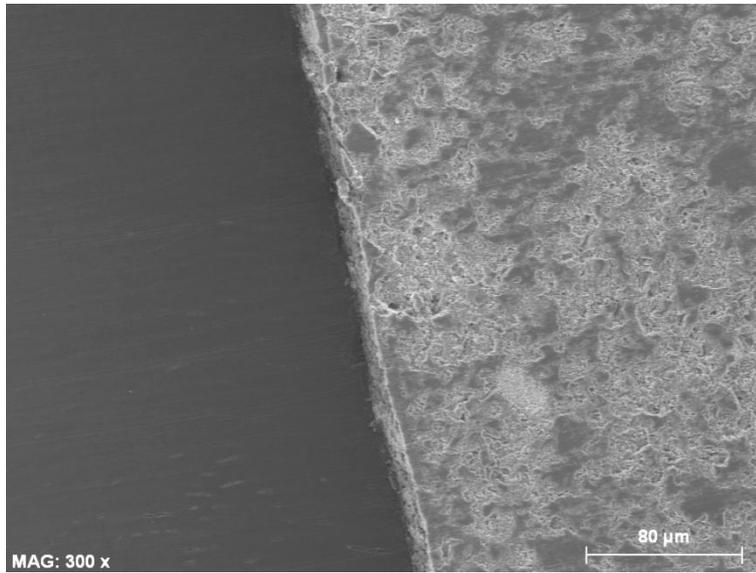


**Figura 26**

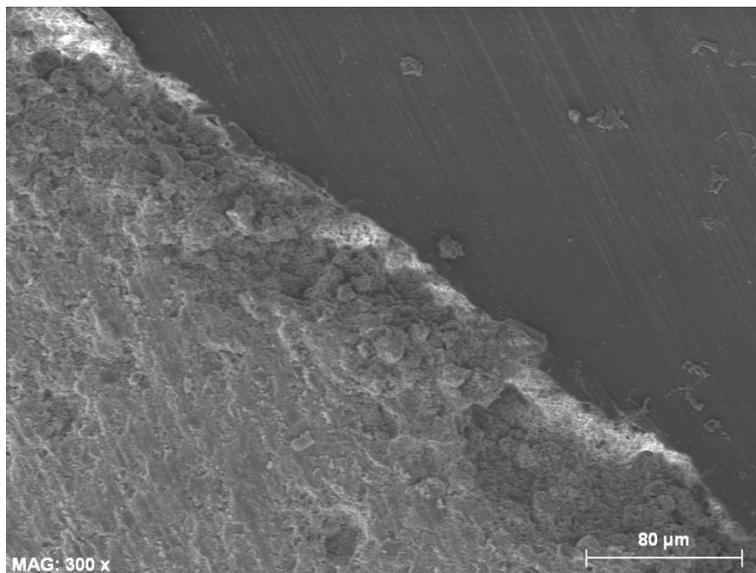


**Figura 27**

Fotomicrografias obtidas pelo MEV de zonas de adaptação máxima do MTA às paredes radiculares em apex de calibre 80 (ampliação de 300X):



**Figura 28**



**Figura 29**

Fotomicrografias obtidas pelo MEV de zonas de adaptação máxima do MTA às paredes radiculares em apex de calibre 100 (ampliação de 300X):

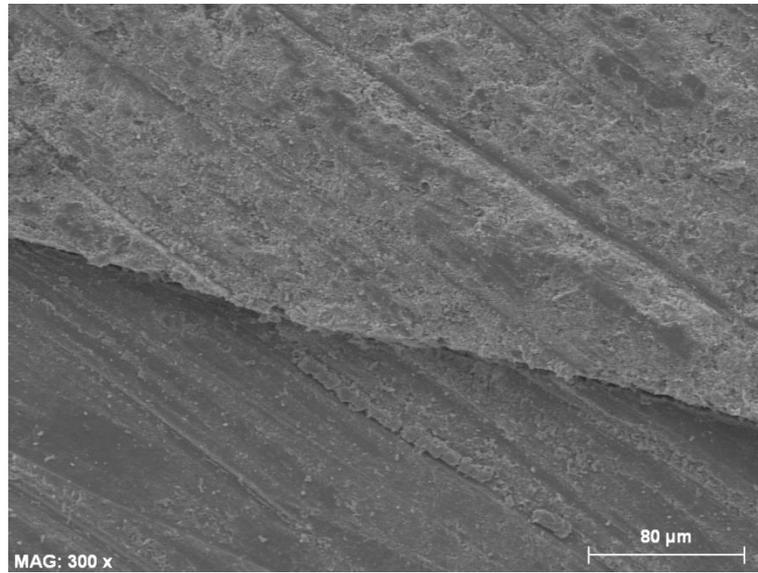


Figura 30

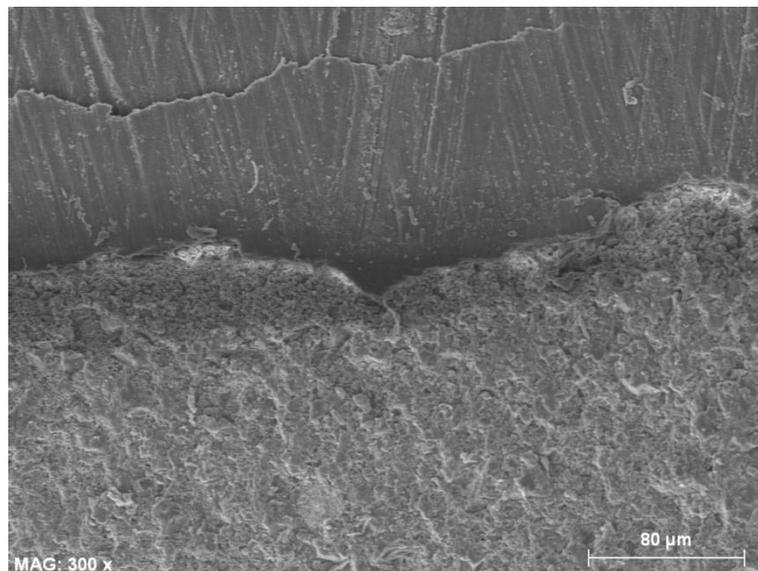
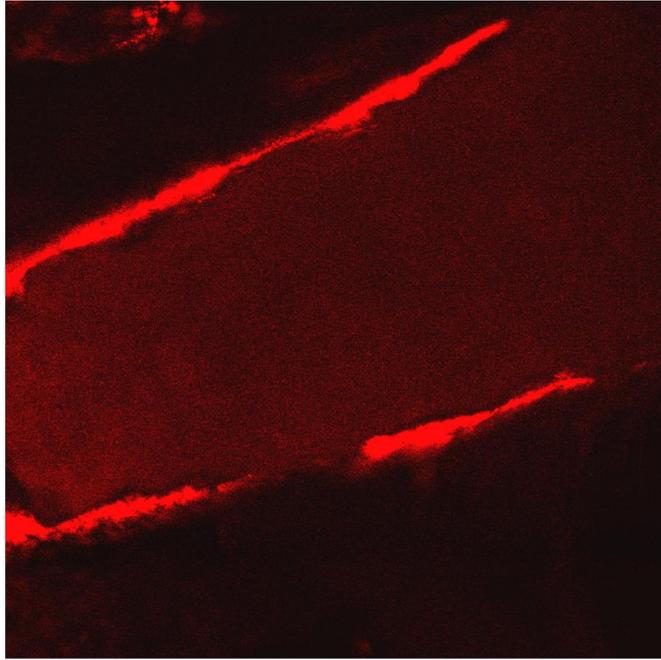
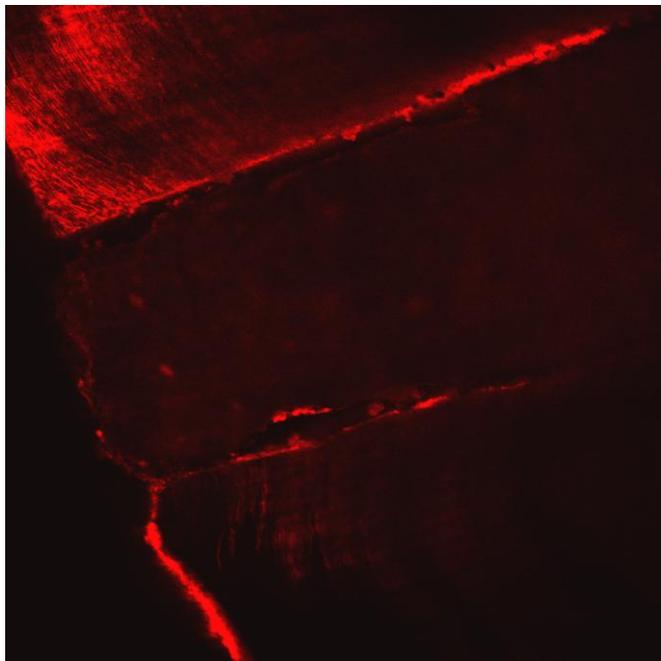


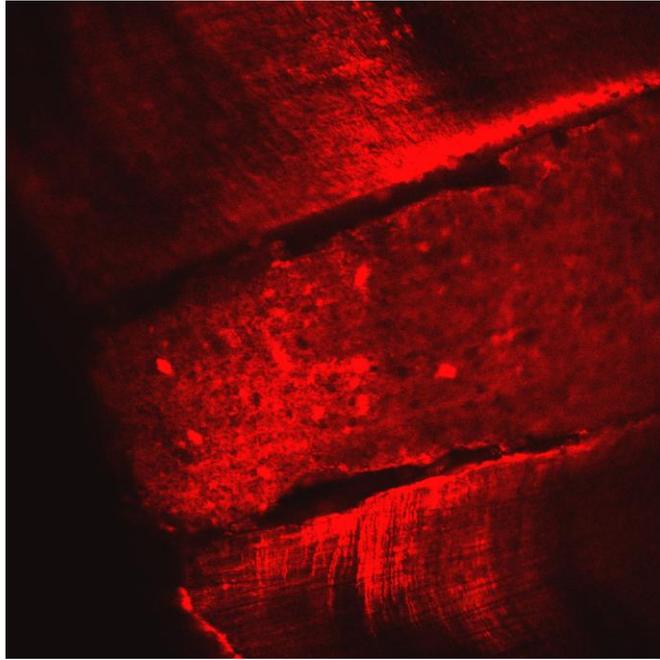
Figura 31



**Figura 32** - Fotomicrografia digital obtida por microscopia confocal a laser da infiltração apical de corante na interface entre a barreira apical de MTA e as paredes radiculares em apex de calibre 60 (ampliação de 20X)



**Figura 33** - fotomicrografia digital obtida por microscopia confocal a laser da infiltração apical de corante na interface entre a barreira apical de MTA e as paredes radiculares em apex de calibre 80 (ampliação de 20X)



**Figura 34** - Fotomicrografia digital obtida por microscopia confocal a laser da infiltração apical de corante na interface entre a barreira apical de MTA e as paredes radiculares em apex de calibre 100 (ampliação de 20X)

## 2 – Resultados da análise estatística

A amostra é constituída por 60 dentes, sendo que foram excluídos no global 8 (13%) dentes, 3 (15%) no calibre 60, 2 (10%) no calibre 80 e 3 (15%) no calibre 100 (tab. 4 e gráf. 1).

	Calibre							
	Total (n=60)		Calibre 60 (n=20)		Calibre 80 (n=20)		Calibre 100 (n=20)	
	n	(%)	n	(%)	N	(%)	n	(%)
<b>Amostra de dentes excluída do estudo por se encontrar danificada?</b>								
Não	52	(87)	17	(85)	18	(90)	17	(85)
Sim	8	(13)	3	(15)	2	(10)	3	(15)

Tabela 4 - Caracterização dos calibres utilizados no estudo (n=60).

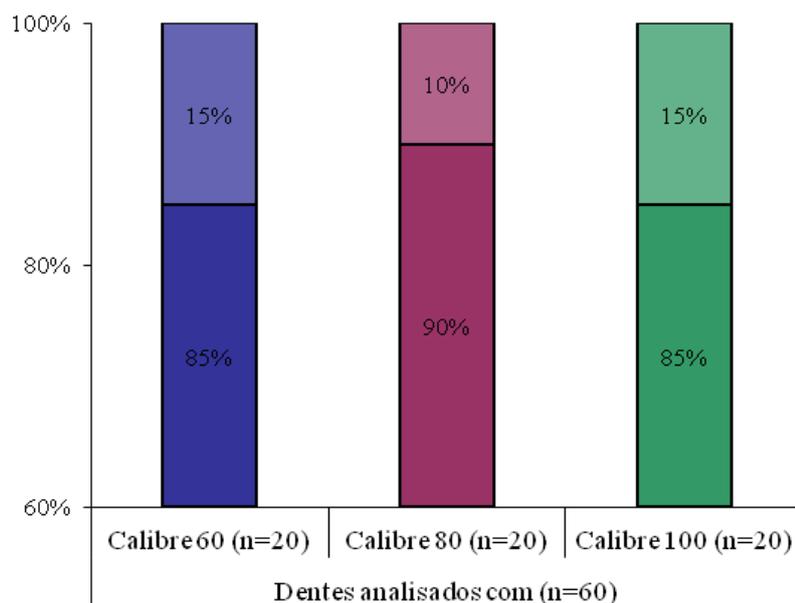


Gráfico 1 – Caracterização do calibre utilizado (n=60).

## 2.1 – Capacidade de selamento do MTA

Através dos valores registados em cada tabela (tab. 1, 2, e 3) foi possível determinar a influência do diâmetro apical na capacidade de selamento do MTA (tab. 5).

O valor mediano da infiltração do corante para o calibre 60 foi igual a 2 variando entre 1 e 5. Para o calibre 80 o valor mediano foi igual a 3,26 variando entre 1 e 4,70. No caso do calibre 100 os valores foram mais elevados, apresentando um valor mediano de 3,70, variando entre 1 e 5, não sendo esta diferença estatisticamente significativa ( $p=0,508$ ) (tab.5 e gráf. 2).

Apesar de um ligeiro aumento dos valores de infiltração apical em ápices de maior calibre, não existiram diferenças estatisticamente significativas entre nenhum dos grupos de estudo ( $p>0,05$ ) (tab. 5 e gráf. 2).

Não existe, desta forma, uma influência de forma significativa do diâmetro do apex sobre a capacidade de selamento do MTA (tab. 5 e gráf. 2).

Calibre	60 (n=17)	80 (n=18)	100 (n=17)	Total (n=52)	$p\text{E}$	$p(1)$	$p(2)$	$p(3)$
Mediana	2,00	3,26	3,70	3,00				
P5	1,00	1,00	1,00	1,00				
P95	5,00	4,70	5,00	5,00	0,508	0,338	0,435	0,344
Min	1,00	1,00	1,00	1,00				
Max	5,00	4,70	5,00	5,00				

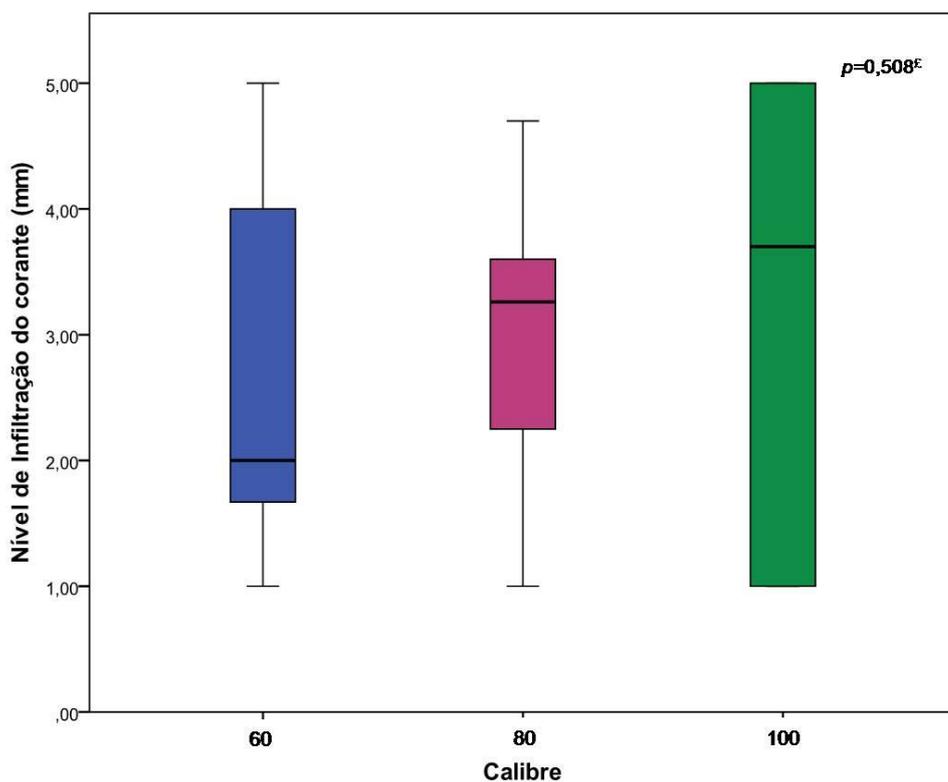
P-Percentil; min-mínimo; Max-máximo; E-Teste de Kruskal-Wallis.

(1) (2) e (3) Teste de Mann-Whitney com nível de significância 0,0167 (pela correção de Bonferroni o nível de significância passa de 0,05 para 0,05 a dividir pelo número de testes a realizar e que, neste caso, para cada variável contínua será igual a 0,05 a dividir por 3=0,0167).

(1) Comparação entre os calibres 60 e 80; (2) Comparação entre os calibres 60 e 100; (3) Comparação entre os calibres 80 e 100.

**Nota:** Foi aplicado o teste de Mann-Whitney para as comparações de calibres 2 a 2, contudo foi utilizado a correção de Bonferroni para determinar essas diferenças post-hoc, ou seja, pela correção de Bonferroni o nível de significância passa de 0,05 para 0,05 a dividir pelo número de testes a realizar e que, neste caso, para cada variável contínua será igual a 0,05 a dividir por 3=0,0167 (ver (1) (2) e (3)).

**Tabela 5** - Distribuição do nível infiltração do corante (mm) em apex de calibre 60, 80 e 100 obturado com MTA (n=52)



**Gráfico 2** – Distribuição do nível de Infiltração de corante (mm) por calibre utilizado (n=52) (£ -Teste de Kruskal-Wallis).

## 2.2 – Adaptação marginal do MTA

Em relação à adaptação marginal do MTA às paredes radiculares, foram registados os valores da desadaptação máxima verificada por corte, para cada um dos grupos, após medição nas imagens obtidas através de MEV (tab. 1, 2 e 3). Através destas medições foi determinada a influência do diâmetro apical na adaptação marginal do MTA.

O valor mediano da desadaptação máxima de MTA observada em apex de calibre 60 foi de 15, variando de 0 a 173, sendo que para o calibre 80 se obteve um valor mediano de 79,5 variando de 0 a 156 e para o calibre 100 um valor mediano de 83 com um valor mínimo de 0 e um máximo também de 156 (tab. 6 e gráf. 3).

Estas diferenças nos valores encontrados para cada grupo de diferente diâmetro apical, relativamente à desadaptação máxima de MTA observada, são diferenças estatisticamente significativas ( $p=0,020$ ) (tab. 6 e gráf. 3).

Entre cada grupo verificaram-se diferenças estatisticamente significativas apenas entre o calibre 60 e o 100 ( $p=0,011$ ). Entre o calibre 60 e 80, apesar das diferenças acentuadas, obteve-se um valor de  $p=0,022$  que, pela correção de Bonferroni, ainda é superior ao nível de significância de 0,0167 (tab. 6 e graf. 3).

Existe, desta forma, uma influência de forma significativa do diâmetro do apex sobre a adaptação marginal do MTA (tab. 6 e gráf. 3).

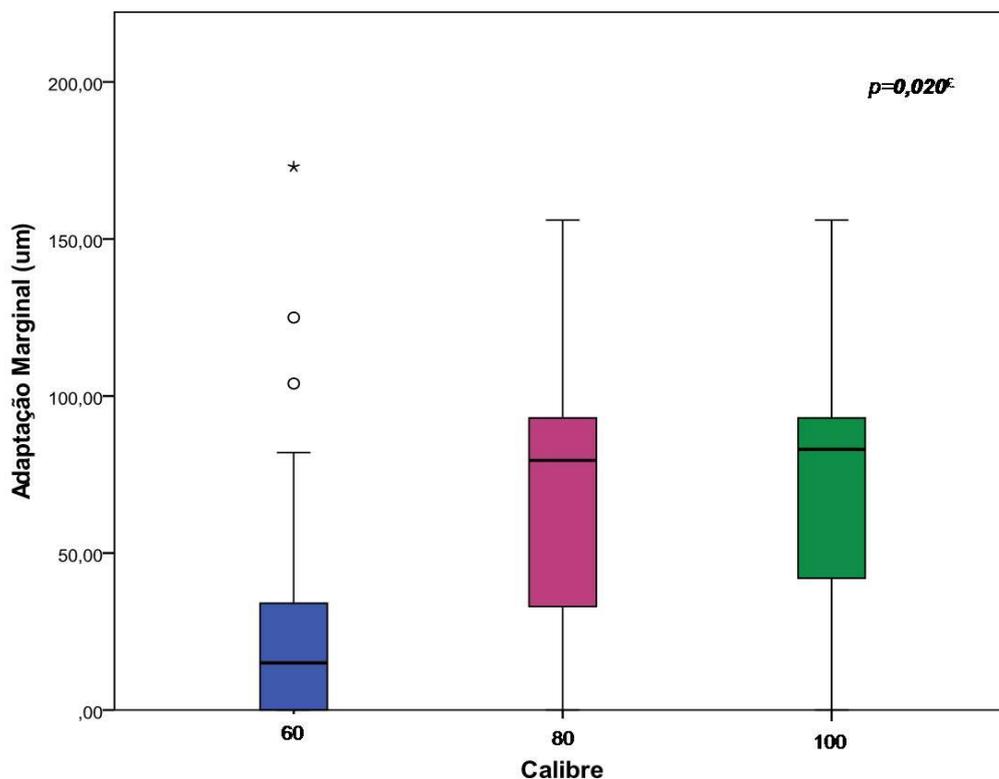
Calibre	60 (n=17)	80 (n=18)	100 (n=17)	Total (n=52)	$pE$	$p(1)$	$p(2)$	$p(3)$
Mediana	15,00	79,50	83,00	58,00				
P5	0,00	0,00	0,00	0,00				
P95	173,00	156,00	156,00	156,00	<b>0,020</b>	0,022	<b>0,011</b>	0,908
Min	0,00	0,00	0,00	0,00				
Max	173,00	156,00	156,00	173,00				

P-Percentil; min-mínimo; Max-máximo; E-Teste de Kruskal-Wallis.

(1) (2) e (3) Teste de Mann-Whitney com nível de significância 0,0167 (pela correção de Bonferroni o nível de significância passa de 0.05 para 0.05 a dividir pelo número de testes a realizar e que, neste caso, para cada variável contínua será igual a 0,05 a dividir por 3=0,0167). (1) Comparação entre os calibres 60 e 80; (2) Comparação entre os calibres 60 e 100; (3) Comparação entre os calibres 80 e 100.

**Nota:** Foi aplicado o teste de Mann-Whitney para as comparações de calibres 2 a 2, contudo foi utilizado a correção de Bonferroni para determinar essas diferenças post-hoc, ou seja, pela correção de Bonferroni o nível de significância passa de 0,05 para 0,05 a dividir pelo número de testes a realizar e que, neste caso, para cada variável contínua será igual a 0,05 a dividir por 3=0,0167 (ver (1) (2) e (3)).

**Tabela 6** - Distribuição da adaptação marginal ( $\mu\text{m}$ ) em apex de calibre 60, 80 e 100 obturado com MTA (n=52)



**Gráfico 3** – Distribuição da adaptação marginal do MTA ( $\mu\text{m}$ ), por calibre utilizado ( $n=52$ ) ( $\chi^2$ -Teste de Kruskal-Wallis).

### 2.3 – Correlação entre infiltração apical de corante e adaptação marginal de MTA

Por último, através do registo dos valores obtidos para a infiltração apical de corante e em relação à adaptação marginal de MTA para cada diâmetro apical, foi possível determinar a existência de uma possível correlação entre ambos.

Através dos coeficientes de correlação de Spearman foi possível determinar que não existe correlação entre a infiltração apical e a adaptação marginal de MTA, quer a nível geral quer por cada grupo de estudo ( $p>0,05$ ) (tab. 7 e 8 e gráf. 4, 5, 6 e 7).

		Nível de infiltração de corante (mm)	Adaptação Marginal ( $\mu\text{m}$ )
Nível de infiltração de corante (mm)	Coeficiente de Correlação	1,000	0,335*
	$p$	-	0,015

\* Coeficiente de Correlação é significativo para um nível de significância de 0,05 (2-tailed).

**Tabela 7.** Coeficientes de correlação de Spearman entre o nível de Infiltração de corante e a adaptação marginal no total (n=52).

Calibre			Nível de infiltração de corante (mm)	Adaptação Marginal ( $\mu\text{m}$ )
60	Nível de infiltração de corante (mm)	Coeficiente de Correlação	1,000	0,143
		$p$	-	0,583
80	Nível de infiltração de corante (mm)	Coeficiente de Correlação	1,000	0,444
		$p$	-	0,065
100	Nível de infiltração de corante (mm)	Coeficiente de Correlação	1,000	0,321
		$p$	-	0,209

**Tabela 8.** Coeficientes de correlação de Spearman entre o nível de Infiltração de corante e a adaptação marginal, em cada calibre 60 (n=17), 80 (n=18) e 100 (n=17).

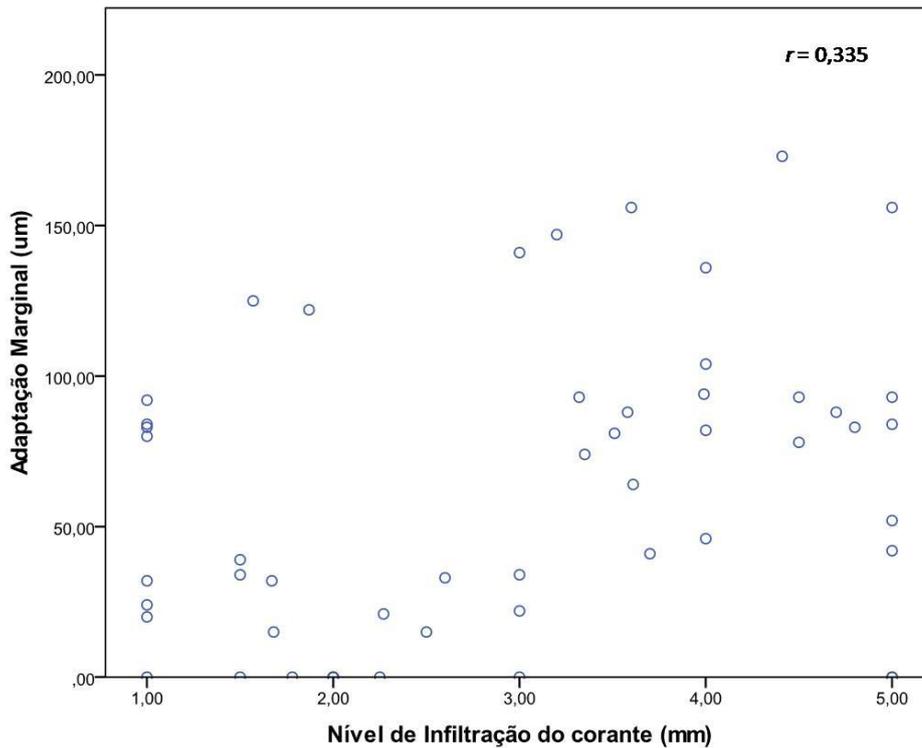


Gráfico 4 – Diagrama de dispersão entre o nível de infiltração de corante (mm) e o nível de adaptação marginal no global (n=52).

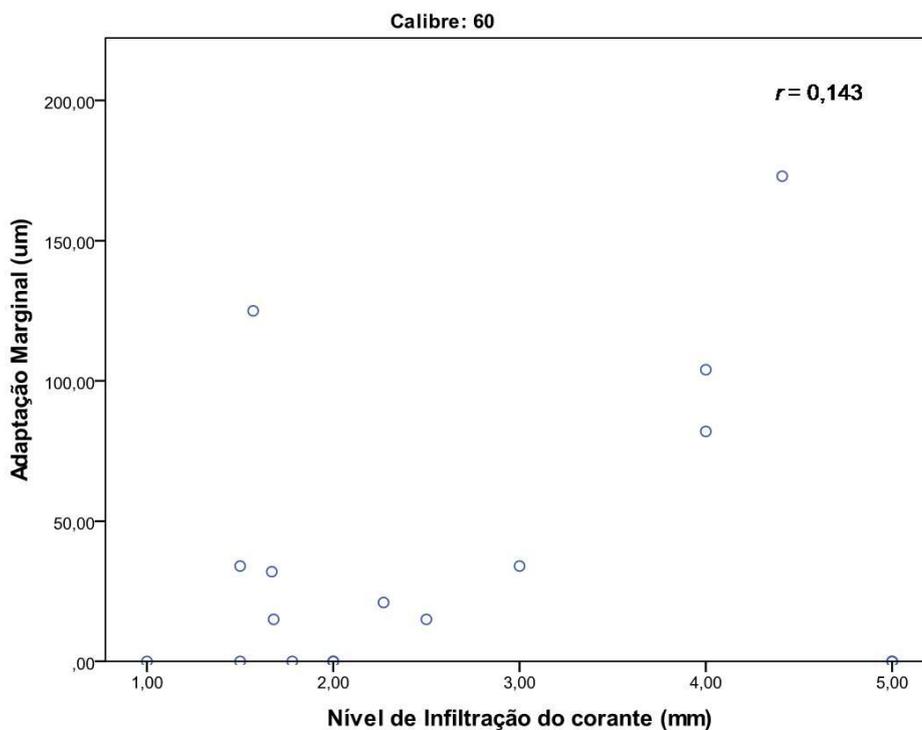


Gráfico 5 – Diagrama de dispersão entre o nível de infiltração de corante (mm) e o nível de adaptação marginal em apex de calibre 60 (n=17).

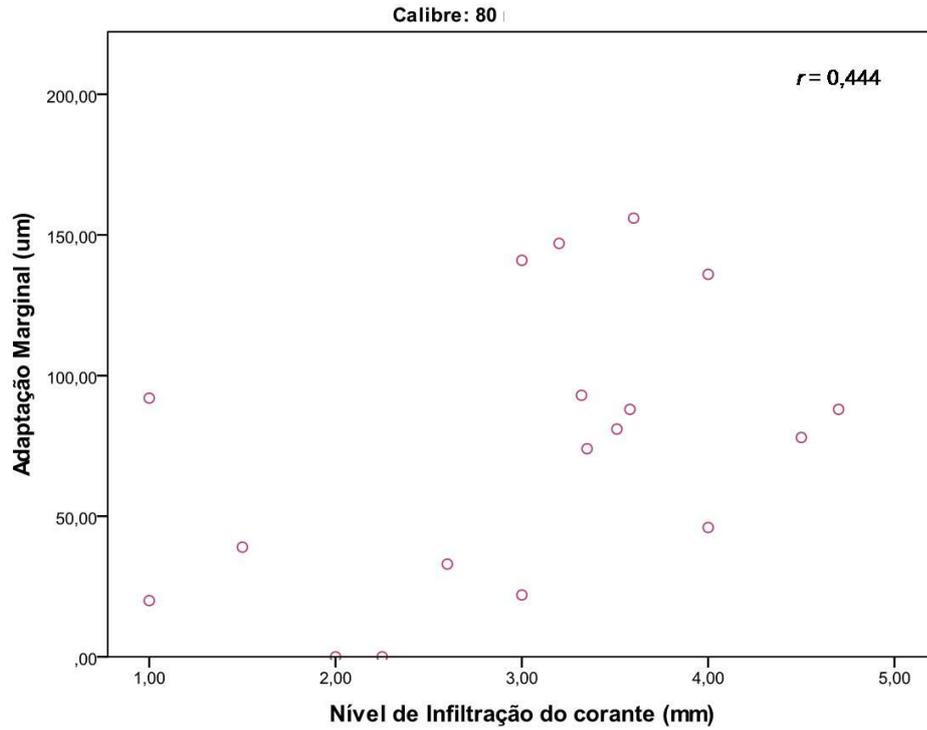


Gráfico 6 – Diagrama de dispersão entre o nível de infiltração de corante (mm) e o nível de adaptação marginal em apex de calibre 80 (n=18).

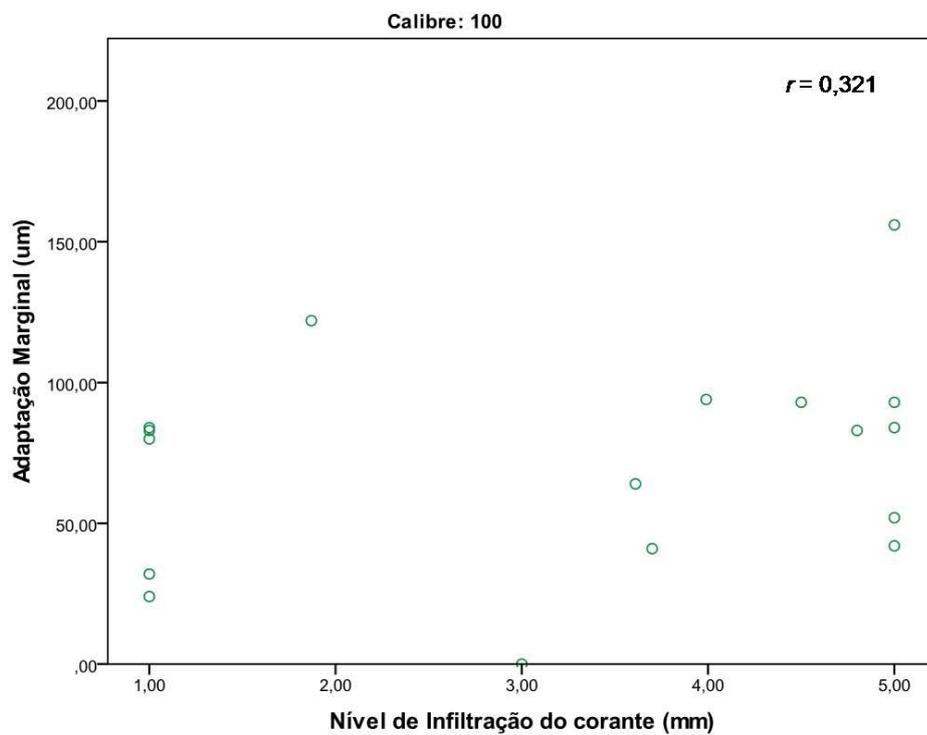


Gráfico 7 – Diagrama de dispersão entre o nível de infiltração de corante (mm) e o nível de adaptação marginal em apex de calibre 100 (n=17)

## DISCUSSÃO DOS RESULTADOS E DO PROCEDIMENTO

Quando dentes com formação incompleta da raiz sofrem necrose pulpar, devido a trauma ou cárie, o desenvolvimento radicular é interrompido, o canal permanece amplo e o apex mantém-se aberto<sup>52, 53, 59-73</sup>. O tratamento endodôntico do canal torna-se, deste modo, um desafio<sup>59, 68, 71, 74-77</sup>.

Nestes casos, no sentido de se conseguir uma boa condensação do material de obturação endodôntico e promover um bom selamento apical, é imperativo criar uma barreira apical artificial ou induzir o encerramento do foramen apical com tecido calcificado<sup>54, 59-62, 64-66, 68, 71, 74, 78-81</sup>.

O “plug” apical ou barreira apical artificial através de uma variedade de materiais tem sido sugerida, ao longo dos tempos, como alternativa à tradicional apexificação com  $\text{Ca(OH)}_2$ .<sup>63, 74, 75, 77, 85, 87, 93</sup>

Vários autores indicaram o MTA como alternativa mais promissora ao hidróxido de cálcio, de forma a criar uma barreira apical artificial e se conseguir uma boa condensação do material de obturação, promovendo ao mesmo tempo um bom selamento apical com elevada taxa de biocompatibilidade.<sup>59-63, 74, 79, 80, 83, 85, 86, 101</sup>

É o selamento da raiz que impede a movimentação de fluidos, microorganismos e seus produtos entre os canais radiculares e o tecido periapical, sendo considerado um factor essencial para o sucesso de toda a endodontia<sup>1, 114-123</sup>.

A capacidade de selamento do MTA e a sua adaptação marginal já foram amplamente estudadas, todavia não existem estudos que as relacionem entre elas, bem como com os diferentes diâmetros apicais que podemos encontrar em tratamentos de dentes imaturos

com apex aberto. A ausência de um estudo destes está na base da realização deste trabalho.

## **1 – Quanto ao procedimento:**

Este trabalho tem como objectivo caracterizar a adaptação marginal do MTA às paredes dos canais radiculares em raízes com ápices abertos, quer por medição do ajuste do MTA às paredes do canal desde o seu extremo apical, quer por medição da infiltração apical de um corante, determinando a influência do diâmetro apical nessa adaptação através da utilização de duas técnicas microscópicas de observação diferentes.

Utilizaram-se dentes monorradiculares como amostra e optou-se pela manutenção das coroas dentárias durante todo o procedimento de forma a nos aproximarmos o mais possível da realidade clínica, reflectindo com maior proximidade as dificuldades técnicas inerentes à execução deste tipo de procedimento.

Várias técnicas *in vitro* têm sido utilizadas para determinar o grau de infiltração permitido por vários tipos de materiais de obturação retrógrada<sup>121</sup>. Os resultados dos estudos *in vitro* estão dependentes do tipo de modelo utilizado e da dificuldade em extrapolar a natureza dinâmica dos padrões de infiltração entre o dente e os tecidos periapicais *in vivo*<sup>121</sup>.

A metodologia escolhida para este estudo, para a medição da infiltração apical, foi descrita por Grossman em 1939 e consiste na medição da penetração do agente corante no canal obturado, que penetra nas interfaces vazias entre os materiais de obturação e as paredes do canal.

A capacidade dos materiais de obturação retrógrada para promover o selamento apical tem sido testada através de vários métodos, tais como, os modelos de penetração de corantes, radioisótopos, bactérias, endotoxina, a medição de acção electroquímica, a técnica de filtração de fluidos (também conhecida como método de transporte de fluidos) e o recurso ao microscópio electrónico de varrimento (MEV)<sup>116, 120, 124, 141, 171, 172</sup>.

O método mais utilizado ao longo dos anos para determinar a capacidade de selamento tem sido a técnica de penetração de corantes, logo seguido da técnica de infiltração de bactérias<sup>99, 114, 120, 121, 123, 141, 173, 174</sup>.

A maior desvantagem da técnica de infiltração de bactérias relativamente à de corantes é o facto de bastar a penetração de uma bactéria para indicar culturas positivas e a extrapolação dos resultados pode dessa maneira não ser a mais correcta<sup>99</sup>.

O método de penetração de corantes está referenciado como um método de fácil execução para avaliar a capacidade de selamento dos materiais de obturação e tem em consideração tanto a infiltração coronal como apical, quando avalia as obturações radiculares<sup>114, 124</sup>.

Apesar da sua popularidade, os estudos que utilizam a penetração de corantes têm várias desvantagens. O tamanho molecular da maior parte das partículas de corantes é menor do que o das bactérias, podendo sugerir resultados falsos porque os corantes podem penetrar até onde as bactérias não podem<sup>115, 120, 123, 134, 173</sup>.

Também está demonstrado que a microinfiltração de moléculas pequenas não se pode prevenir, enquanto que a infiltração de partículas do tamanho de bactérias pode ser evitada<sup>121</sup>. Esta limitação é relativa, existindo autores que defendem a utilização deste método, visto que, se um determinado material impedir a penetração de moléculas tão pequenas como os corantes, terá potencialidades para prevenir infiltração de substâncias maiores como as bactérias e os seus subprodutos<sup>124, 133</sup>. Todavia a maior desvantagem

deste tipo de estudos refere-se à capacidade de medição do grau de infiltração num só plano, tornando impossível avaliar a infiltração total<sup>115, 120, 134, 173</sup>.

Deve também referir-se que, quando comparados com condições clínicas, os estudos *in vitro* são estáticos e não reflectem a interacção dinâmica entre os canais radiculares e os tecidos periapicais<sup>120, 121</sup>.

Outros factores como o pH e a reactividade química podem também influenciar o grau de infiltração dos corantes<sup>115, 121, 173</sup>.

Ao não existir uma evidência clara que um determinado método seja superior ao outro, o uso dos corantes tem a vantagem de fornecer dados quantitativos através da medição linear da sua penetração<sup>141</sup>.

No entanto deve ter-se em conta o facto dos resultados variarem com a utilização de diferentes corantes<sup>134</sup>. Já foram referidas discrepâncias nos padrões de infiltração do azul de metileno e da tinta da China em dentes obturados, tendo sido encontrado um nível maior e uma variação mais acentuada na infiltração do azul de metileno do que na da tinta da China nos grupos experimentais utilizados<sup>134</sup>.

Existem estudos que demonstraram que o tamanho molecular das partículas do azul de metileno é comparável ao dos pequenos produtos metabólicos bacterianos<sup>121</sup>.

Por outro lado, Wu et al. (1998) após realização de um estudo, referiu que o azul de metileno sofre descoloração quando em contacto com alguns materiais alcalinos, o que pode causar resultados irreais relativamente aos materiais avaliados nesses estudos de infiltração<sup>155</sup>. De acordo com este autor o MTA provoca uma redução de 73% na densidade óptica do azul de metileno, o que pode conduzir a resultados falsos nos estudos de microinfiltração<sup>175</sup>.

A descoloração do azul de metileno ocorre devido à sua instabilidade quando em contacto com materiais alcalinos. Esses materiais causam a hidrólise do azul de metileno, resultando na formação de um composto claro chamado tionina<sup>155</sup>. Isto pode explicar porque o azul de metileno é descolorado pelo hidróxido de cálcio<sup>155</sup>.

Em relação ao MTA, o mesmo se pode relacionar dado que, durante a reacção de hidratação liberta hidróxido de cálcio, apesar deste composto não fazer parte da sua constituição<sup>119, 128, 132</sup>. A libertação de hidróxido de cálcio pode ser explicada pelo facto do MTA conter na sua composição óxido de cálcio capaz de reagir com iões hidroxilo para formar o hidróxido de cálcio referido, provocando desta forma a referida descoloração do azul de metileno<sup>119, 132</sup>.

Neste trabalho utilizou-se como corante Rodamina B, pois de acordo com Moraes et al. (2005) e Tanomaru Filho et al. (2005), a Rodamina B não é influenciada por materiais alcalinos<sup>155</sup>.

Nos estudos de penetração de corantes a infiltração pode ser avaliada de forma qualitativa ou quantitativa. Neste estudo, foi utilizada uma análise quantitativa, usando imagens digitais obtidas por microscópio confocal a laser e software de medição.

Através da microscopia confocal, cuja criação é atribuída a Marvin Minsky em 1955, podemos visualizar a penetração do corante através da interface entre material e paredes dentinárias, utilizando a fluorescência na aquisição de imagens.

A avaliação da adaptação marginal dos materiais às superfícies dentárias é uma técnica frequentemente associada à utilização da microscopia electrónica de varrimento.

Em estudos prévios de avaliação da adaptação marginal com Microscópio Electrónico de Varrimento, as interfaces entre os materiais e as paredes do canal radicular têm sido avaliadas em amostras com dentes originais, em réplicas de resina ou em ambos<sup>68, 169</sup>.

Neste estudo optou-se por utilizar os dentes originais como amostra para análise no MEV, à semelhança do que foi feito no estudo de Orosco et al. (2010) em que esta metodologia apresentou resultados satisfatórios<sup>155</sup>. No entanto, durante a preparação da amostra para observação no MEV foram perdidos, na totalidade, 6 cortes. As imagens destes cortes apresentavam *cracks* longitudinais na interface entre o material e a parede do canal radicular.

De acordo com Torabinejad et al. (1995) a ocorrência de *cracks* pode estar relacionada com o processo de preparação da amostra para observação ao MEV, em que os cortes são cobertos por um “filme” de ouro-paládio sob temperaturas críticas<sup>68</sup>.

Alguns autores referem que a preparação convencional da amostra biológica para observação ao MEV pode estar associada à presença de artefactos<sup>169, 176</sup>. A alta evaporação em vácuo e a desidratação pode causar artefactos pela indução de *cracks* nos tecidos duros, levantamento ou separação dos materiais em relação ao tecido dentário adjacente<sup>169, 176</sup>. Adicionalmente pode haver também expansão ou contracção do dente e/ou do material de obturação<sup>176</sup>. A avaliação da adaptação marginal através de réplicas de resina tem sido então sugerida como alternativa para evitar este tipo de problemas<sup>169</sup>.

Relativamente ao protocolo de irrigação, foi utilizado o hipoclorito de sódio alternado com o EDTA, visto ser um dos protocolos mais aceites na literatura actual para remoção da smear layer tendo em conta um maior sucesso no tratamento endodôntico<sup>68</sup>.

A quantidade de informação disponível na literatura ainda não é clara quanto ao efeito da smear layer na capacidade de selamento do MTA ao longo do tempo<sup>68</sup>.

De acordo com Yildirin et al. (2008) a microinfiltração apical é menor na presença de smear layer quando o MTA é utilizado como material no tratamento de dentes imaturos com ápice aberto<sup>68</sup>. Em sentido contrário, Araújo et al. (2013) referiu que no seu estudo não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais com presença e ausência de smear layer<sup>68</sup>.

A espessura da barreira apical de MTA criada neste modelo de simulação de dentes imaturos foi de 5mm em todos os grupos. Esta espessura está de acordo com o sugerido pela literatura que refere que uma espessura de barreira apical de MTA entre 4 a 5mm é a mais indicada para prevenir a infiltração no caso deste material<sup>69, 155</sup>.

## 2 - Quanto aos resultados:

A capacidade de selamento dos materiais de obturação é essencial para o sucesso do tratamento, já que é o selamento da raiz que impede a movimentação de fluidos, microorganismos e seus produtos entre os canais radiculares e o tecido periapical<sup>1, 114-123</sup>.

Esta característica pode ser determinada directamente, através da verificação do nível de infiltração que os materiais permitem, ou indirectamente, pela verificação da adaptação marginal dos materiais às raízes seccionadas, através da observação de zonas de descontinuidade entre eles<sup>116, 123, 124</sup>.

O controlo positivo serviu para assegurar que havia penetração apical de corante e o controlo negativo provou que o apex é a única via para penetração do corante.

Em relação à infiltração apical, e apesar de existirem diferenças na metodologia do estudo, esquecendo a variabilidade de diâmetro apical, de uma forma geral os resultados que se obteve neste estudo vão de encontro aos resultados obtidos, relativamente ao MTA, por Orosco et al. (2010). De acordo com o estudo deste autor o nível médio de infiltração permitido pelo MTA foi inferior a 4mm, da mesma forma como demonstrado neste trabalho. Existiam, de qualquer forma, diferenças relativamente às fórmulas de MTA que se utilizaram em cada estudo, visto que, contrariamente ao que foi realizado no trabalho do referido autor, utilizou-se o MTA branco neste estudo.

Num estudo de Stefopoulos et al. (2008) em que se comparou a capacidade de selamento do MTA cinzento com o MTA branco foram obtidos resultados semelhantes, sem diferenças estatisticamente significativas, entre os dois tipos de MTA, comprovando que o MTA branco pode atingir os mesmos níveis de selamento do que a fórmula cinzenta. Estes resultados são contrários aos de Matt et al. (2004) que, num estudo semelhante, encontrou diferenças na capacidade de selamento, referindo que o MTA cinzento apresentou

melhores resultados<sup>74</sup>. Estes resultados devem ser, no entanto, analisados com algumas reservas dado que, utilizaram como corante o azul de metileno que, como sabemos, já se demonstrou sofrer alterações de descoloração quando utilizado em estudos com MTA cinzento<sup>74</sup>.

Relativamente à avaliação da capacidade de selamento do MTA nos diferentes grupos de estudo foi possível averiguar que não existem diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes diâmetros apicais simulados ( $p>0,05$ ). De qualquer modo, e apesar de não existirem diferenças significativas, observa-se uma tendência para maiores diâmetros apicais apresentarem maiores níveis de infiltração.

Os nossos resultados estão de acordo com os obtidos por Khalilak et al. (2012) que também obteve resultados semelhantes entre diâmetros apicais de 1mm e 1.4mm apesar das diferenças no modelo de estudo, visto que no trabalho desenvolvido por este autor foi utilizado um modelo de infiltração de bactérias<sup>69</sup>. As diferenças que obteve, apesar de não serem estatisticamente significativas revelam também um crescente aumento de valores de infiltração no grupo com maior diâmetro apical<sup>69</sup>.

De forma semelhante Adel et al. (2012) comparou a capacidade de selamento entre o MTA e CEM (calcium enriched mixture) em dois diâmetros apicais diferentes<sup>99</sup>. Através da realização deste estudo obteve diferenças estatisticamente significativas entre os diâmetros, sendo que o grupo de estudo com menor diâmetro (1.1mm) apresentou menores níveis de infiltração do que o grupo com diâmetros apicais de 1.7mm<sup>99</sup>. Todavia o autor deste estudo optou por um modelo de filtração de fluidos porque, segundo refere, a amostra não é destruída possibilitando assim uma medição longitudinal da capacidade de selamento<sup>99</sup>. Como podem ser registados volumes muito pequenos neste método, os resultados tornam-se mais precisos<sup>99</sup>.

A relação dos menores diâmetros apicais com os menores níveis de infiltração pode ser atribuída a uma menor superfície de contacto do material submetido ao meio de

infiltração, bem como a uma melhor condensação efectuada nesses canais<sup>69</sup>. A relação da barreira apical mais estreita com uma melhor absorção de humidade e, por sua vez, melhor presa do MTA, também foi referida para justificar melhores resultados nestes diâmetros mais pequenos<sup>69</sup>.

Por sua vez, a técnica ortógrada de colocação do MTA para obtenção de uma correcta barreira apical, é uma técnica sensível que apresenta algumas dificuldades no processo de deslocação do MTA até ao apex<sup>69</sup>. Esta técnica pode ter limitações quanto à adaptação do material às paredes dentinárias conduzindo assim a estas diferenças nos resultados<sup>69</sup>.

Da mesma forma podem ser justificados os resultados obtidos após realização deste trabalho, em que houve uma diferença estatisticamente significativa relativamente à adaptação marginal observada por MEV nos diferentes calibres apicais ( $p=0,020$ ). A obtenção da barreira apical de MTA torna-se mais delicada através da técnica ortógrada em maiores calibres de apex, em que a condensação do material contra as paredes radiculares não é conseguida com tanta facilidade.

As diferenças entre grupos sugerem isso mesmo, dado que entre apex de calibre 60 e 80 ainda não existem diferenças estatisticamente significativas apesar de um valor de  $p=0,022$  ( $>0,0167$ ). Um aumento do tamanho da amostra poderia assim ser o suficiente para uma diferença significativa. Da mesma forma quando se comparam os calibres maiores (80 com 100) também não existem diferenças significativas, embora neste caso com um valor de  $p=0,908$ . Já quando se compara os calibres 60 e 100 as diferenças nos resultados são estatisticamente significativas ( $p=0,011$ ).

Após análise destes resultados quanto à adaptação marginal do MTA em diferentes diâmetros apicais, pode supor-se que quando a diferença de diâmetro não é grande (60 para 80 ou 80 para 100) os resultados reflectem diferenças pouco acentuadas, pois a execução da técnica não varia tanto quanto à sua dificuldade. Quando a diferença de diâmetro é maior (60 para 100) o nível de execução técnico varia mais e os resultados

acabam por comprovar isso. Entre os calibres maiores a execução técnica não varia muito e daí os resultados muito semelhantes entre os 2 grupos, justificando um valor de  $p=0,908$ .

A análise dos resultados obtidos por MEV tem de ser feita com precaução, dado que não se encontra aqui representada a adaptação de duas superfícies de contacto nas três dimensões.

No entanto, pela análise das imagens digitais obtidas através de MEV, é claramente perceptível que a predominância de falhas na condensação é maior na zona mais apical e menor nas camadas superiores. Estes dados sugerem, de qualquer das formas, uma tendência para uma melhoria na condensação do material no sentido coronal. Tal facto poder-se-á explicar dada a ausência de uma barreira opositora, junto ao apex, ficando assim a condensação dos primeiros milímetros do material comprometida. À medida que se condensa o MTA vai-se criando uma barreira que serve de base às camadas superiores podendo, dessa maneira, o material ser melhor compactado de forma a não evidenciar tanto a existência de poros ou lacunas como nas zonas mais próximas do apex.

Os valores encontrados neste estudo para a adaptação marginal do MTA às paredes dentinárias são bastante diferentes dos obtidos por Shokouhinejad et al. (2014) no seu trabalho<sup>169</sup>. Este autor obteve valores médios de desadaptação do MTA muito inferiores aos que se obteve neste estudo. Os melhores valores obtidos por esse autor podem ser facilmente explicados pela diferença no modelo utilizado visto que no seu caso o MTA foi utilizado como material de obturação retrógrada em cavidades apicais de 3mm simuladas para o efeito<sup>169</sup>. A compactação do MTA neste tipo de técnica permite uma melhor adaptação do material comparativamente à técnica ortógrada em que não existe uma matriz sólida como oponente para uma compactação forte.

Ainda relativamente à infiltração, neste trabalho utilizou-se a Rodamina B como corante para medição através da visualização com microscópio confocal a laser. A Rodamina B já demonstrou noutros estudos uma maior capacidade de penetração quando comparada

com outros corantes.

De acordo com um estudo recente que fez a comparação do grau de infiltração de 3 corantes diferentes em raízes obturadas com MTA, a Rodamina apresentou o maior índice de penetração entre os 3 corantes<sup>175</sup>. Em relação ao azul de metileno a justificação reside na, já falada, descoloração provocada pela alcalinidade do MTA<sup>175</sup>. Já em relação ao nitrato de prata, este apresenta um peso molecular inferior ao azul de metileno e à rodamina B mas, no entanto, demonstrou menor infiltração apical entre o MTA e as paredes do canal<sup>175</sup>. O autor sugeriu como hipótese que algum tipo de reacção química ocorre entre corante e material<sup>175</sup>.

Desta forma, a comparação deste tipo de resultados entre este estudo e outros semelhantes, deve ter sempre em consideração o tipo de estudo, a metodologia do estudo, bem como o tipo de corante utilizado para avaliar a infiltração.

Os métodos para a simulação de dentes imaturos e preparação de modelos de experimentação variam muito<sup>98</sup>. Neste trabalho utilizou-se um modelo de simulação de dentes imaturos semelhante ao utilizado por Orosco et al. (2010), no entanto a técnica utilizada para instrumentação e alargamento e calibragem dos ápices foi um pouco diferente.

Os dentes utilizados neste estudo podem simular a forma e dimensão apical dos dentes imaturos mas não permitem reproduzir ou simular perfeitamente a composição dentinária ou as suas propriedades físicas<sup>97, 98</sup>. Como a dentinogénese é interrompida durante o processo de desenvolvimento radicular nos dentes imaturos, as paredes radiculares finas possuem dentina peritubular e intertubular incompleta, com maior densidade tubular na direcção do cimento<sup>97, 98</sup>.

No sentido contrário, quando os dentes maduros são utilizados para simular dentes imaturos, existe uma menor densidade tubular nas zonas externas da raiz e maior dentina intertubular<sup>97, 98</sup>.

Este facto pode representar uma limitação para este tipo de estudos dado que não se sabe se a capacidade de selamento do MTA e a sua adaptação marginal às paredes dentinárias será a mesma nestas condições simuladas.

Após a compactação de MTA contra a dentina, ocorre a formação de uma camada na interface dentina-MTA, na presença de fosfatos<sup>109</sup>. Esta camada é frequentemente chamada de hidroxiapatite e tem um papel importante na capacidade de selamento do MTA<sup>109</sup>.

De acordo com Sarkar et al. (2005) o MTA inicialmente produz um selamento mecânico e posteriormente leva à formação de cristais de hidroxiapatite, que após reacção com a dentina estabelece uma adesão química<sup>168</sup>.

Foi descrito que o MTA tem a capacidade de estimular a deposição mineral na interface material-dentina e no interior dos tubulos dentinários e que isso pode ter um efeito muito positivo nas taxas de sucesso do material<sup>110</sup>.

Sendo assim, esta ligação química importante que ocorre entre o MTA e a dentina, poderá estar comprometida, em parte, por alterações provocadas na estrutura dentinária aquando da simulação dos dentes imaturos.

Relativamente à existência de uma possível correlação entre a capacidade de selamento e a adaptação marginal, obteve-se um coeficiente de correlação de Spearman de 0,335 ( $p > 0,05$ ). Os resultados indicam claramente uma falta de correlação entre os níveis de infiltração apical e as lacunas existentes na interface entre o material de obturação e a parede do canal radicular.

Estes resultados são contrários aos obtidos no estudo de Stabholz et al. (1985) que avaliou a capacidade de selamento de 4 materiais e conseguiu estabelecer uma correlação com os resultados da adaptação marginal destes materiais após análise por MEV<sup>155</sup>. No entanto, este estudo foi conduzido num modelo de simulação de apicectomia, simulando a obturação retrógrada de cavidades preparadas para esse efeito.

Em sentido oposto, os resultados deste estudo foram semelhantes aos encontrados por Abdal e Retief (1982) e por Xavier et al. (2005) que também referiram uma falta de correlação entre a infiltração apical e a adaptação marginal dos materiais<sup>155</sup>.

Mais recentemente Orosco et al. (2010) através de um modelo de estudo semelhante ao utilizado neste trabalho, referiu a mesma falta de correlação entre as duas variáveis. No entanto, enquanto neste trabalho se mediu a desadaptação máxima do material às paredes radiculares no sentido transversal, Orosco et al mediu a adaptação marginal linearmente no sentido longitudinal. Outro aspecto que se deve referir é o facto de terem utilizado MTA cinzento enquanto neste estudo se utilizou a fórmula branca do MTA.

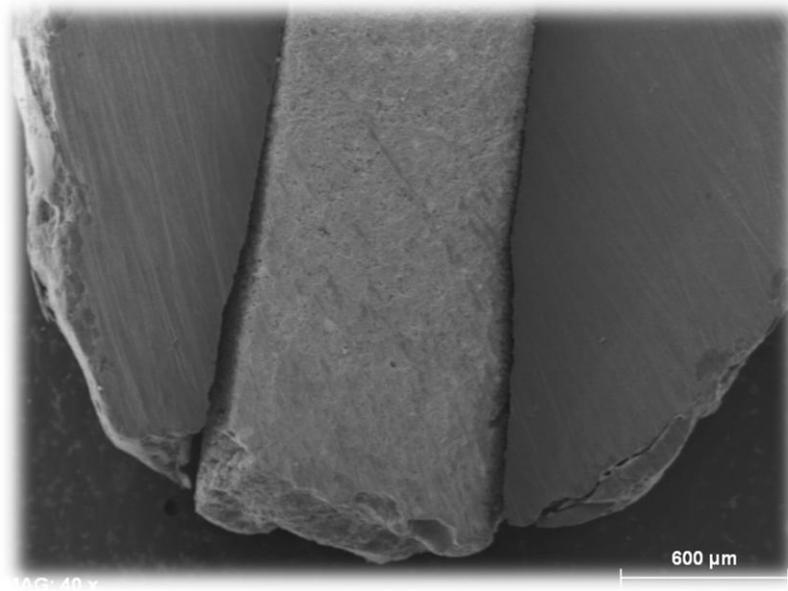
As propriedades físico-químicas e de manuseamento, bem como o tamanho das partículas variam consoante as diferentes fórmulas do MTA<sup>169</sup>. Já foi demonstrado que o tamanho das partículas do MTA branco é menor do que o da fórmula cinzenta, o que pode influenciar as propriedades físicas do material<sup>169</sup>.

Tendo em consideração a ausência de possível correlação entre a capacidade de selamento e a adaptação marginal neste estudo, é importante considerar as limitações da metodologia utilizada. Embora a capacidade de selamento e a adaptação marginal tenham sido avaliadas no mesmo plano, é impossível afirmar que aquilo que se viu em ambos os microscópios, naqueles pontos específicos nos planos observados, ocorreu de igual forma em todo o perímetro do canal.

A ocorrência de infiltração não é um processo linear e ocorre de forma distinta no sistema tridimensional do canal, bem como a possível existência de lacunas na interface entre o material e a parede radicular não ser sinónimo de desadaptação do material em todo o perímetro. Uma lacuna não representa o que ocorre em toda a barreira apical. Desta forma é muito difícil de estabelecer uma correlação entre a adaptação marginal e a capacidade de selamento.

Para comparação dos resultados de estudos relativamente à adaptação marginal, vários factores como a metodologia do estudo, o plano de secção da raiz e o método de medição das lacunas na interface do material com a parede radicular, devem ser considerados de modo a possibilitar uma comparação mais justa e real entre os resultados dos variados estudos<sup>169</sup>.

Por fim, também através deste estudo se pode inferir que uma espessura de barreira apical entre 4 a 5mm é a mais indicada para prevenir a infiltração apical quando optamos por utilizar MTA, confirmando o que já é indicado na literatura actual<sup>69, 155</sup>.



## CONCLUSÕES

Tendo em conta a metodologia desenvolvida neste estudo e os resultados obtidos, pode concluir-se que:

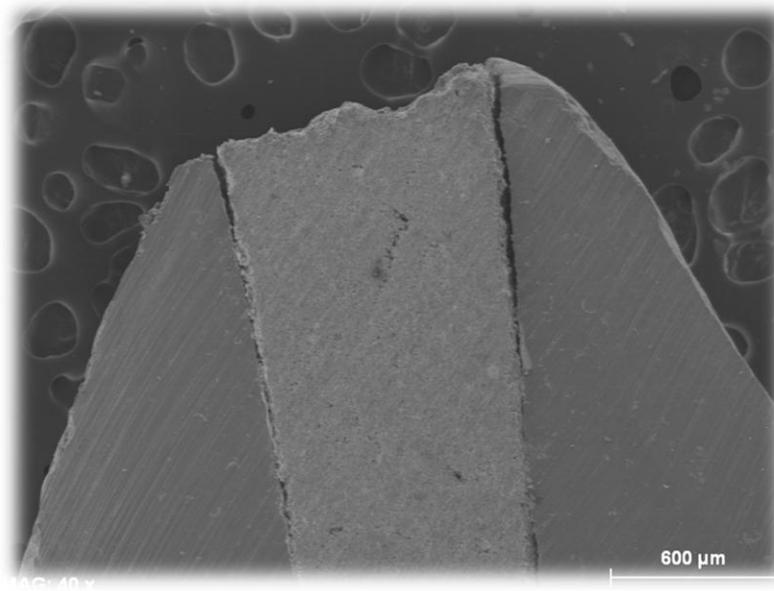
Os valores de infiltração apical de corante foram inferiores em ápices de menor calibre. Assim sendo, podemos dizer que a capacidade de selamento do MTA é maior em diâmetros apicais menores.

Relativamente à adaptação marginal do MTA às paredes radiculares foi possível determinar que essa adaptação é superior em dentes de calibre apical mais pequeno.

Foram maiores as desadaptações máximas observadas, na interface entre o material e a parede dentinária, à medida que se aumenta o diâmetro apical, com diferenças estatisticamente significativas entre grupos de estudo. Comprova-se deste modo a influência do diâmetro apical sobre a adaptação marginal do MTA às paredes radiculares em dentes com apex aberto.

Não existe correlação entre os resultados obtidos na observação pelo Microscópio Confocal a Laser e os resultados obtidos pelo Microscópio Electrónico de Varrimento.

A técnica de microscopia confocal a laser, para avaliação da infiltração apical de corante e a microscopia electrónica de varrimento, para avaliação da adaptação marginal do MTA, mostram ser duas técnicas válidas para o que se propuseram.



## **BIBLIOGRAFIA**

1. Platt AS, Wannfors K. The effectiveness of compomer as a root-end filling: a clinical investigation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2004; 97:508-512.
2. Johnson BR. Considerations in the selection of a root-end filling material. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 1999; 87:398-404.
3. Asrari M, Lobner D. In vitro neurotoxic evaluation of root-end-filling materials. *J Endod*, 2003; 29:743-746.
4. Ozbas H, Yaltirik M, Bilgic B, Issever H. Reactions of connective tissue to compomers, composite and amalgam root-end filling materials. *Int Endod J*, 2003; 36:281-287.
5. Chavez De Paz LE, Dahlen G, Molander A, Moller A, Bergenholtz G. Bacteria recovered from teeth with apical periodontitis after antimicrobial endodontic treatment. *Int Endod J*, 2003; 36:500-508.
6. Capilla MV, Soto EM, Botella CR, Sanchez EP, Gaya MV. Cirugía periapical de 29 dientes. Comparación entre técnica convencional, microsierra y uso de ultrasonidos. *Med Oral*, 2002; 7:46-53.
7. Pinheiro BC, Bramante AS, Hussne RP. Influence of the penetration of instruments, used in the active lateral condensatio, in the quality of root canal filling. *J Appl Oral Sci*, 2003; 11:186-191.
8. Rolph HJ, Lennon A, Riggio MP, Saunders WP, MacKenzie D, Coldero L, et al. Molecular identification of microorganisms from endodontic infections. *J Clin Microbiol*, 2001; 39:3282-3289.
9. Alves FRF. Compreendendo a etiologia microbiana das infecções endodônticas. *Rev. biociên. Taubaté*, 2004; 10:67-71.
10. Bevilacqua IM, Habitante SM, Cruz CW. Chlorhexidine: one alternative in treatment of endodontic infections- a review of literature. *Rev. biociên. Taubaté*, 2004; 10:139-145.
11. Richard Schwartz D. The Role of the Restorative Dentist in the Success or Failure of Endodontics. *Contemporary Endodontics*, 2004; 1:9-14.
12. Cobankara FK, Altinoz HC, Ergani O, Kav K, Belli S. In vitro antibacterial activities of root-canal sealers by using two different methods. *J Endod*, 2004; 30:57-60.
13. Silva LAB, Perasi FT, Ito IY, Yamashita JC, Bonifácio KC, Tanomaru Filho M. A presença de fungos nas infecções endodônticas. *Rev. da Faculd. de Odontologia*, 2000; 12:62-66.

14. Bergenholtz G, Horsted-Bindslev P, Reit C. Textbook of Endodontology. Blackwell Publishing Lda; 2003.
15. Patel DV, Sherriff M, Ford TR, Watson TF, Mannocci F. The penetration of RealSeal primer and Tubliseal into root canal dentinal tubules: a confocal microscopic study. *Int Endod J*, 2007; 40:67-71.
16. Lin LM, Rosenberg PA, Lin J. Do procedural errors cause endodontic treatment failure? *J Am Dent Assoc*, 2005; 136:187-193; quiz 231.
17. Gier RE, Mitchell DF. Anachoretic effect of pulpitis. *J Dent Res*, 1968; 47:564-570.
18. Leonardo MR, Silva RAB, Assed S, Nelson-Filho P. Importance of bacterial endotoxin (LPS) in endodontics. *J. Appl. Oral Sci*, 2004; 12:93-98.
19. Cohen S, Burns RC. Pathways of the pulp. St. Louis: Mosby; 1998.
20. Alves J, Walton R, Drake D. Coronal leakage: endotoxin penetration from mixed bacterial communities through obturated, post-prepared root canals. *J Endod*, 1998; 24:587-591.
21. Leonardo MR, da Silva LA, Tanomaru Filho M, Bonifacio KC, Ito IY. In vitro evaluation of antimicrobial activity of sealers and pastes used in endodontics. *J Endod*, 2000; 26:391-394.
22. Albuquerque DS, Diniz AS, Matheus TCU. Clinical Appreciations About the Root Canal Flora. *Rev. do CRO-PE*, 1999.
23. Fouad AF, Barry J, Caimano M, Clawson M, Zhu Q, Carver R, et al. PCR-based identification of bacteria associated with endodontic infections. *J Clin Microbiol*, 2002; 40:3223-3231.
24. Sukawat C, Srisuwan T. A comparison of the antimicrobial efficacy of three calcium hydroxide formulations on human dentin infected with *Enterococcus faecalis*. *J Endod*, 2002; 28:102-104.
25. Gomes BP, Souza SF, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, et al. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. *Int Endod J*, 2003; 36:267-275.
26. Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Lopes HP, Elias CN, de Uzeda M. Fungal infection of the radicular dentin. *J Endod*, 2002; 28:770-773.
27. Sabeti M, Slots J. Herpesviral-bacterial coinfection in periapical pathosis. *J Endod*,

2004; 30:69-72.

28. Ponce AR, editor. Endodoncia: consideraciones actuales. 1ª Edición ed. Caracas: AMOLCA; 2003.

29. Madureira R. Efecto de la instrumentación rotatoria sobre las paredes de los conductos dentarios curvos (estudio in vitro). [Tesis Doctoral]. Valência: Universitat de Valencia - España; 2006.

30. Shipper G, Teixeira FB, Arnold RR, Trope M. Periapical inflammation after coronal microbial inoculation of dog roots filled with gutta-percha or resilon. *J Endod*, 2005; 31:91-96.

31. Teles AM, Paulo MF, Capelas JA, Melo P, Cunha LM. Estudo Comparativo da Capacidade de Selamento de Três Técnicas de Obturação de canais radiculares. *Rev. Port. Estomatol.Med.Dent. Cirur. Maxilofacial*, 2005; 46:203-210.

32. Kersten HW, Wesselink PR, Thoden van Velzen SK. The diagnostic reliability of the buccal radiograph after root canal filling. *Int Endod J*, 1987; 20:20-24.

33. Wesson CM, Gale TM. Molar apicectomy with amalgam root-end filling: results of a prospective study in two district general hospitals. *Br Dent J*, 2003; 195:707-714; discussion 698.

34. Sousa CJ, Loyola AM, Versiani MA, Biffi JC, Oliveira RP, Pascon EA. A comparative histological evaluation of the biocompatibility of materials used in apical surgery. *Int Endod J*, 2004; 37:738-748.

35. Khabbaz MG, Kerezoudis NP, Aroni E, Tsatsas V. Evaluation of different methods for the root-end cavity preparation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2004; 98:237-242.

36. Schilder H. Cleaning and shaping the root canal. *Dent Clin North Am*, 1974; 18:269-296.

37. Sakaue H, Komatsu K, Yoshioka T, Ishimura H, Ebihara A, Suda H. Evaluation of coronal leakage and pathway of dye leakage after obturation with various materials for open apical foramina. *Dent Mater J*, 2013; 32:130-137.

38. Cobankara FK, Orucoglu H, Sengun A, Belli S. The quantitative evaluation of apical sealing of four endodontic sealers. *J Endod*, 2006; 32:66-68.

39. Rodrigues-Ponce A. Endodoncia Consideraciones Actuales. Caracas Venezuela: Amolca; 2003.

40. Brosco VH, Bernardinelli N, Moraes IG. "In vitro" evaluation of the apical sealing of root canals obturated with different techniques. *J Appl Oral Sci*, 2003; 11:181-185.
41. Ingle J, Taintor J. *Endodontia*. Brasil: Editora Guanabara; 1989.
42. Ferreira MM, Sanches F, Rodrigues B, Gonçalves D, Dias JPM. Estudo Comparativo da Infiltração Apical de Canais Radiculares Obturados por Duas Técnicas Diferentes. *Rev. Port. Estomatol.Med.Dent. Cirur. Maxilofacial*, 2006; 47:133-138.
43. Justus YV. Lo más Nuevo en Obturación Tridimensional del Sistema Radicular Activ GP: Técnica de cono único. *Rev. de la Soc. de Endod. de Chile*, 2006; 13:4-6.
44. Kopper PM, Figueiredo JA, Della Bona A, Vanni JR, Bier CA, Bopp S. Comparative in vivo analysis of the sealing ability of three endodontic sealers in post-prepared root canals. *Int Endod J*, 2003; 36:857-863.
45. Oliver CM, Abbott PV. Correlation between clinical success and apical dye penetration. *Int Endod J*, 2001; 34:637-644.
46. Ferraz JAB. Estudo "in vitro" da capacidade de selamento marginal apical promovido por três técnicas de obturação de canais radiculares. São Paulo: Faculd. de Odontologia de Rib. Preto. Universidade de São Paulo; 1999.
47. Pommel L, About I, Pashley D, Camps J. Apical leakage of four endodontic sealers. *J Endod*, 2003; 29:208-210.
48. Verissimo DM, do Vale MS. Methodologies for assessment of apical and coronal leakage of endodontic filling materials: a critical review. *J Oral Sci*, 2006; 48:93-98.
49. Kataoka H, Yoshioka T, Suda H, Imai Y. Dentin bonding and sealing ability of a new root canal resin sealer. *J Endod*, 2000; 26:230-235.
50. Moraes FG, Bramante CM, Moraes IGdea. Influence of the EDTA, Nd:YAG laser and association of both on the filling of artificial lateral root canals. *J. Appl. Oral Sci.*, 2004; 12,:22-26.
51. Raymundo A, Portela CP, Leonardi DP, Baratto Filho F. Análise radiográfica do preenchimento de canais laterais por quatro diferentes técnicas de obturação. *RSBO*, 2005; 2:22-27.
52. Gawthaman M, Vinodh S, Mathian VM, Vijayaraghavan R, Karunakaran R. Apexification with calcium hydroxide and mineral trioxide aggregate: Report of two cases. *J Pharm Bioallied Sci*, 2013; 5:S131-134.

53. Shekhar V, Shashikala K. Cone beam computed tomography evaluation of the periapical status of nonvital tooth with open apex obturated with mineral trioxide aggregate: a case report. *Case Rep Dent*, 2013; 2013:714585.
54. Raldi DP, Mello I, Habitante SM, Lage-Marques JL, Coil J. Treatment options for teeth with open apices and apical periodontitis. *J Can Dent Assoc*, 2009; 75:591-596.
55. Williamson AE, Dawson DV, Drake DR, Walton RE, Rivera EM. Effect of root canal filling/sealer systems on apical endotoxin penetration: a coronal leakage evaluation. *J Endod*, 2005; 31:599-604.
56. Schilder H. Filling root canals in three dimensions. 1967. *J Endod*, 2006; 32:281-290.
57. Schafer E, T. Z. Solubility of root-canal sealers in water and artificial saliva. *Int Endod J*, 2003; 36:660-669.
58. Martins AS, Ostroski MM, Silva Neto UX, Westphalen VPD, Fariniuk LF, Moraes IG. An in vitro evaluation of coronal leakage of different resin-based endodontic sealers. *Revista Odonto Ciência*, 2006; 21:179-184.
59. Simon S, Rilliard F, Berdal A, Machtou P. The use of mineral trioxide aggregate in one-visit apexification treatment: a prospective study. *Int Endod J*, 2007; 40:186-197.
60. Pace R, Giuliani V, Pini Prato L, Baccetti T, Pagavino G. Apical plug technique using mineral trioxide aggregate: results from a case series. *Int Endod J*, 2007; 40:478-484.
61. Felipe WT, Felipe MC, Rocha MJ. The effect of mineral trioxide aggregate on the apexification and periapical healing of teeth with incomplete root formation. *Int Endod J*, 2006; 39:2-9.
62. D'Arcangelo C, D'Amaro M. Use of MTA for orthograde obturation of nonvital teeth with open apices: report of two cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2007; 104:e98-101.
63. Sarris S, Tahmassebi JF, Duggal MS, Cross IA. A clinical evaluation of mineral trioxide aggregate for root-end closure of non-vital immature permanent incisors in children-a pilot study. *Dent Traumatol*, 2008; 24:79-85.
64. Erdem AP, Sepet E. Mineral trioxide aggregate for obturation of maxillary central incisors with necrotic pulp and open apices. *Dent Traumatol*, 2008; 24:e38-41.
65. Hong ST, Bae KS, Baek SH, Kum KY, Lee W. Microleakage of accelerated mineral trioxide aggregate and Portland cement in an in vitro apexification model. *J Endod*, 2008; 34:56-58.

66. Al-Kahtani A, Shostad S, Schifferle R, Bhambhani S. In-vitro evaluation of microleakage of an orthograde apical plug of mineral trioxide aggregate in permanent teeth with simulated immature apices. *J Endod*, 2005; 31:117-119.
67. Ham KA, Witherspoon DE, Gutmann JL, Ravindranath S, Gait TC, Opperman LA. Preliminary evaluation of BMP-2 expression and histological characteristics during apexification with calcium hydroxide and mineral trioxide aggregate. *J Endod*, 2005; 31:275-279.
68. Araujo AC, Nunes E, Fonseca AA, Cortes MI, Horta MC, Silveira FF. Influence of smear layer removal and application mode of MTA on the marginal adaptation in immature teeth: a SEM analysis. *Dent Traumatol*, 2013; 29:212-217.
69. Khalilak Z, Vali T, Danesh F, Vatanpour M. The Effect of One-Step or Two-Step MTA Plug and Tooth Apical Width on Coronal Leakage in Open Apex Teeth. *Iran Endod J*, 2012; 7:10-14.
70. Yazdizadeh M, Bouzarjomehri Z, Khalighinejad N, Sadri L. Evaluation of Apical Microleakage in Open Apex Teeth Using MTA Apical Plug in Different Sessions. *ISRN Dent*, 2013; 2013:959813.
71. Albadri S, Chau YS, Jarad F. The use of mineral trioxide aggregate to achieve root end closure: three case reports. *Dent Traumatol*, 2012; 29:469-473.
72. Kim US, Shin SJ, Chang SW, Yoo HM, Oh TS, Park DS. In vitro evaluation of bacterial leakage resistance of an ultrasonically placed mineral trioxide aggregate orthograde apical plug in teeth with wide open apices: a preliminary study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2009; 107:e52-56.
73. Mente J, Hage N, Pfefferle T, Koch MJ, Dreyhaupt J, Staehle HJ, et al. Mineral trioxide aggregate apical plugs in teeth with open apical foramina: a retrospective analysis of treatment outcome. *J Endod*, 2009; 35:1354-1358.
74. Stefopoulos S, Tsatsas DV, Kerezoudis NP, Eliades G. Comparative in vitro study of the sealing efficiency of white vs grey ProRoot mineral trioxide aggregate formulas as apical barriers. *Dent Traumatol*, 2008; 24:207-213.
75. Hachmeister DR, Schindler WG, Walker WA, 3rd, Thomas DD. The sealing ability and retention characteristics of mineral trioxide aggregate in a model of apexification. *J Endod*, 2002; 28:386-390.
76. Bortoluzzi EA, Souza EM, Reis JM, Esberard RM, Tanomaru-Filho M. Fracture strength of bovine incisors after intra-radicular treatment with MTA in an experimental immature tooth model. *Int Endod J*, 2007; 40:684-691.

77. Chakraborty A, Dey B, Dhar R, Sardar P. Healing of apical rarefaction of three nonvital open apex anterior teeth using a white portland cement apical plug. *Contemp Clin Dent*, 2012; 3:S177-181.
78. Asgary S, Ehsani S. MTA resorption and periradicular healing in an open-apex incisor: A case report. *Saudi Dent J*, 2012; 24:55-59.
79. de Leimburg ML, Angeretti A, Ceruti P, Lendini M, Pasqualini D, Berutti E. MTA obturation of pulpless teeth with open apices: bacterial leakage as detected by polymerase chain reaction assay. *J Endod*, 2004; 30:883-886.
80. Matt GD, Thorpe JR, Strother JM, McClanahan SB. Comparative study of white and gray mineral trioxide aggregate (MTA) simulating a one- or two-step apical barrier technique. *J Endod*, 2004; 30:876-879.
81. Mehrvarzfar P, Akhavan H, Ghasemi S, Khodaei F, Tour Savadkouhi S, Dianat O. Mineral Trioxide Aggregate Mixed with Normal Saline, Calcium Chloride or KY Jelly as Apical Plug in Simulated Open Apices: An In vitro Microleakage Study. *Iran Endod J*, 2014; 9:45-49.
82. Maroto M, Barberia E, Planells P, Vera V. Treatment of a non-vital immature incisor with mineral trioxide aggregate (MTA). *Dent Traumatol*, 2003; 19:165-169.
83. Ghaziani P, Aghasizadeh N, Sheikh-Nezami M. Endodontic treatment with MTA apical plugs: a case report. *J Oral Sci*, 2007; 49:325-329.
84. Giuliani V, Baccetti T, Pace R, Pagavino G. The use of MTA in teeth with necrotic pulps and open apices. *Dent Traumatol*, 2002; 18:217-221.
85. Holden DT, Schwartz SA, Kirkpatrick TC, Schindler WG. Clinical outcomes of artificial root-end barriers with mineral trioxide aggregate in teeth with immature apices. *J Endod*, 2008; 34:812-817.
86. Oliveira TM, Sakai VT, Silva TC, Santos CF, Abdo RC, Machado MA. Mineral trioxide aggregate as an alternative treatment for intruded permanent teeth with root resorption and incomplete apex formation. *Dent Traumatol*, 2008; 24:565-568.
87. De-Deus G, Coutinho-Filho T. The use of white Portland cement as an apical plug in a tooth with a necrotic pulp and wide-open apex: a case report. *Int Endod J*, 2007; 40:653-660.
88. Lee LW, Hsieh SC, Lin YH, Huang CF, Hsiao SH, Hung WC. Comparison of clinical outcomes for 40 necrotic immature permanent incisors treated with calcium hydroxide or mineral trioxide aggregate apexification/apexogenesis. *J Formos Med Assoc*, 2014.
89. Chang SW, Oh TS, Lee W, Cheung GS, Kim HC. Long-term observation of the mineral

trioxide aggregate extrusion into the periapical lesion: a case series. *Int J Oral Sci*, 2013; 5:54-57.

90. Yassen GH. The orthograde application of mineral trioxide aggregate apical plug may be an effective treatment approach in teeth with open apices. *J Evid Based Dent Pract*, 2013; 13:104-106.

91. Caronna V, Himel V, Yu Q, Zhang JF, Sabey K. Comparison of the surface hardness among 3 materials used in an experimental apexification model under moist and dry environments. *J Endod*, 2014; 40:986-989.

92. Jacobovitz M, de Pontes Lima RK. The use of calcium hydroxide and mineral trioxide aggregate on apexification of a replanted tooth: a case report. *Dent Traumatol*, 2009; 25:e32-36.

93. Nosrat A, Nekoofar MH, Bolhari B, Dummer PM. Unintentional extrusion of mineral trioxide aggregate: a report of three cases. *Int Endod J*, 2012; 45:1165-1176.

94. Schmoldt SJ, Kirkpatrick TC, Rutledge RE, Yaccino JM. Reinforcement of simulated immature roots restored with composite resin, mineral trioxide aggregate, gutta-percha, or a fiber post after thermocycling. *J Endod*, 2011; 37:1390-1393.

95. Tuna EB, Dincol ME, Gencay K, Aktoren O. Fracture resistance of immature teeth filled with BioAggregate, mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide. *Dent Traumatol*, 2011; 27:174-178.

96. Bakland LK, Andreasen JO. Will mineral trioxide aggregate replace calcium hydroxide in treating pulpal and periodontal healing complications subsequent to dental trauma? A review. *Dent Traumatol*, 2012; 28:25-32.

97. Desai S, Chandler N. The restoration of permanent immature anterior teeth, root filled using MTA: a review. *J Dent*, 2009; 37:652-657.

98. Ulusoy OI, Nayir Y, Darendeliler-Yaman S. Effect of different root canal sealers on fracture strength of simulated immature roots. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2011; 112:544-547.

99. Adel M, Nima MM, Shivaie Kojoori S, Norooz Oliaie H, Naghavi N, Asgary S. Comparison of endodontic biomaterials as apical barriers in simulated open apices. *ISRN Dent*, 2012; 2012:359873.

100. Cauwels RG, Pieters IY, Martens LC, Verbeeck RM. Fracture resistance and reinforcement of immature roots with gutta percha, mineral trioxide aggregate and calcium phosphate bone cement: a standardized in vitro model. *Dent Traumatol*, 2010; 26:137-142.

101. Hayashi M, Shimizu A, Ebisu S. MTA for obturation of mandibular central incisors with open apices: case report. *J Endod*, 2004; 30:120-122.
102. Floratos SG, Tsatsoulis IN, Kontakiotis EG. Apical barrier formation after incomplete orthograde MTA apical plug placement in teeth with open apex--report of two cases. *Braz Dent J*, 2013; 24:163-166.
103. Yildirim T, Orucoglu H, Cobankara FK. Long-term evaluation of the influence of smear layer on the apical sealing ability of MTA. *J Endod*, 2008; 34:1537-1540.
104. Paul ML, Mazumdar D, Vyavahare NK, Baranwal AK. Healing of the periapical lesion in posterior teeth with mineral trioxide aggregate using orthograde technique - Two case reports. *Contemp Clin Dent*, 2012; 3:S264-268.
105. Khetarpal A, Chaudhry S, Talwar S, Verma M. Endodontic management of open apex using MTA and platelet - rich fibrin membrane barrier: A newer matrix concept. *J Clin Exp Dent*, 2013; 5:e291-294.
106. Shetty P, Xavier AM. Management of a talon cusp using mineral trioxide aggregate. *Int Endod J*, 2011; 44:1061-1068.
107. Belobrov I, Parashos P. Treatment of tooth discoloration after the use of white mineral trioxide aggregate. *J Endod*, 2011; 37:1017-1020.
108. Kvinnsland SR, Bardsen A, Fristad I. Apexogenesis after initial root canal treatment of an immature maxillary incisor - a case report. *Int Endod J*, 2010; 43:76-83.
109. Bogen G, Kuttler S. Mineral trioxide aggregate obturation: a review and case series. *J Endod*, 2009; 35:777-790.
110. Mente J, Leo M, Panagidis D, Ohle M, Schneider S, Lorenzo Bermejo J, et al. Treatment outcome of mineral trioxide aggregate in open apex teeth. *J Endod*, 2013; 39:20-26.
111. Roberts HW, Toth JM, Berzins DW, Charlton DG. Mineral trioxide aggregate material use in endodontic treatment: a review of the literature. *Dent Mater*, 2008; 24:149-164.
112. Shahi S, Rahimi S, Yavari HR, Samiei M, Janani M, Bahari M, et al. Effects of various mixing techniques on push-out bond strengths of white mineral trioxide aggregate. *J Endod*, 2012; 38:501-504.
113. Haglund R, He J, Jarvis J, Safavi KE, Spangberg LS, Zhu Q. Effects of root-end filling materials on fibroblasts and macrophages in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2003; 95:739-745.

114. De Bruyne MA, De Bruyne RJ, Rosiers L, De Moor RJ. Longitudinal study on microleakage of three root-end filling materials by the fluid transport method and by capillary flow porometry. *Int Endod J*, 2005; 38:129-136.
115. Valois CR, Costa ED, Jr. Influence of the thickness of mineral trioxide aggregate on sealing ability of root-end fillings in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2004; 97:108-111.
116. Gondim E, Zaia AA, Gomes BP, Ferraz CC, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Investigation of the marginal adaptation of root-end filling materials in root-end cavities prepared with ultrasonic tips. *Int Endod J*, 2003; 36:491-499.
117. Balto H, Al-Nazhan S. Attachment of human periodontal ligament fibroblasts to 3 different root-end filling materials: Scanning electron microscope observation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2003; 95:222-227.
118. Balto HA. Attachment and morphological behavior of human periodontal ligament fibroblasts to mineral trioxide aggregate: a scanning electron microscope study. *J Endod*, 2004; 30:25-29.
119. Masuda YM, Wang X, Hossain M, Unno A, Jayawardena JA, Saito K, et al. Evaluation of biocompatibility of mineral trioxide aggregate with an improved rabbit ear chamber. *J Oral Rehabil*, 2005; 32:145-150.
120. Fischer EJ, Arens DE, Miller CH. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as compared with zinc-free amalgam, intermediate restorative material, and Super-EBA as a root-end filling material. *J Endod*, 1998; 24:176-179.
121. Scheerer SQ, Steiman HR, Cohen J. A comparative evaluation of three root-end filling materials: an in vitro leakage study using *Prevotella nigrescens*. *J Endod*, 2001; 27:40-42.
122. Yaccino JM, Walker WA, 3rd, Carnes DL, Jr., Schindler WG. Longitudinal microleakage evaluation of Super-EBA as a root-end sealing material. *J Endod*, 1999; 25:552-554.
123. Peters CI, Peters OA. Occlusal loading of EBA and MTA root-end fillings in a computer-controlled masticator: a scanning electron microscopic study. *Int Endod J*, 2002; 35:22-29.
124. Xavier CB, Weismann R, de Oliveira MG, Demarco FF, Pozza DH. Root-end filling materials: apical microleakage and marginal adaptation. *J Endod*, 2005; 31:539-542.
125. Ribeiro DA, Duarte MA, Matsumoto MA, Marques ME, Salvadori DM. Biocompatibility in vitro tests of mineral trioxide aggregate and regular and white Portland

cements. *J Endod*, 2005; 31:605-607.

126. Pistorius A, Willershausen B, Briseno Marroquin B. Effect of apical root-end filling materials on gingival fibroblasts. *Int Endod J*, 2003; 36:610-615.

127. Torabinejad M, Ford TR, Abedi HR, Kariyawasam SP, Tang HM. Tissue reaction to implanted root-end filling materials in the tibia and mandible of guinea pigs. *J Endod*, 1998; 24:468-471.

128. Camilleri J, Montesin FE, Papaioannou S, McDonald F, Pitt Ford TR. Biocompatibility of two commercial forms of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J*, 2004; 37:699-704.

129. Saidon J, He J, Zhu Q, Safavi K, Spangberg LS. Cell and tissue reactions to mineral trioxide aggregate and Portland cement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2003; 95:483-489.

130. Koulaouzidou EA, Papazisis KT, Economides NA, Beltes P, Kortsaris AH. Antiproliferative effect of mineral trioxide aggregate, zinc oxide-eugenol cement, and glass-ionomer cement against three fibroblastic cell lines. *J Endod*, 2005; 31:44-46.

131. Osorio RM, Hefti A, Vertucci FJ, Shawley AL. Cytotoxicity of endodontic materials. *J Endod*, 1998; 24:91-96.

132. Yaltirik M, Ozbas H, Bilgic B, Issever H. Reactions of connective tissue to mineral trioxide aggregate and amalgam. *J Endod*, 2004; 30:95-99.

133. Aqrabawi J. Sealing ability of amalgam, super EBA cement, and MTA when used as retrograde filling materials. *Br Dent J*, 2000; 188:266-268.

134. Adamo HL, Buruiana R, Schertzer L, Boylan RJ. A comparison of MTA, Super-EBA, composite and amalgam as root-end filling materials using a bacterial microleakage model. *Int Endod J*, 1999; 32:197-203.

135. Peydró M, Forner L. Revisión actualizada de la bibliografía sobre el MTA. *Archivos de Odontoestomatología*, 2004; 20:610-627.

136. Mohammadi Z, Modaresi J, Yazdizadeh M. Evaluation of the antifungal effects of mineral trioxide aggregate materials. *Aust Endod J*, 2006; 32:120-122.

137. Torabinejad M, Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *J Endod*, 1999; 25:197-205.

138. Islam I, Chng HK, Yap AU. Comparison of the physical and mechanical properties of MTA and portland cement. *J Endod*, 2006; 32:193-197.

139. Abdullah D, Ford TR, Papaioannou S, Nicholson J, McDonald F. An evaluation of accelerated Portland cement as a restorative material. *Biomaterials*, 2002; 23:4001-4010.
140. Apaydin ES, Shabahang S, Torabinejad M. Hard-tissue healing after application of fresh or set MTA as root-end-filling material. *J Endod*, 2004; 30:21-24.
141. Chng HK, Islam I, Yap AU, Tong YW, Koh ET. Properties of a new root-end filling material. *J Endod*, 2005; 31:665-668.
142. Tahan E, Celik D, Er K, Tasdemir T. Effect of unintentionally extruded mineral trioxide aggregate in treatment of tooth with periradicular lesion: a case report. *J Endod*, 2010; 36:760-763.
143. Economides N, Pantelidou O, Kokkas A, Tziafas D. Short-term periradicular tissue response to mineral trioxide aggregate (MTA) as root-end filling material. *Int Endod J*, 2003; 36:44-48.
144. Andelin WE, Browning DF, Hsu GH, Roland DD, Torabinejad M. Microleakage of resected MTA. *J Endod*, 2002; 28:573-574.
145. Koh ET, McDonald F, Pitt Ford TR, Torabinejad M. Cellular response to Mineral Trioxide Aggregate. *J Endod*, 1998; 24:543-547.
146. DeAngelis L, Chockalingam R, Hamidi-Ravari A, Hay S, Lum V, Sathorn C, et al. In vitro assessment of mineral trioxide aggregate setting in the presence of interstitial fluid alone. *J Endod*, 2013; 39:402-405.
147. Lamb EL, Loushine RJ, Weller RN, Kimbrough WF, Pashley DH. Effect of root resection on the apical sealing ability of mineral trioxide aggregate. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2003; 95:732-735.
148. Kogan P, He J, Glickman GN, Watanabe I. The effects of various additives on setting properties of MTA. *J Endod*, 2006; 32:569-572.
149. AlAnezi AZ, Zhu Q, Wang YH, Safavi KE, Jiang J. Effect of selected accelerants on setting time and biocompatibility of mineral trioxide aggregate (MTA). *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2011; 111:122-127.
150. Chala S, Abouqal R, Rida S. Apexification of immature teeth with calcium hydroxide or mineral trioxide aggregate: systematic review and meta-analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2011; 112:e36-42.
151. Krastl G, Allgayer N, Lenherr P, Filippi A, Taneja P, Weiger R. Tooth discoloration induced by endodontic materials: a literature review. *Dent Traumatol*, 2012; 29:2-7.

152. Stefopoulos S, Tzanetakis GN, Kontakiotis EG. Non-surgical retreatment of a failed apicoectomy without retrofilling using white mineral trioxide aggregate as an apical barrier. *Braz Dent J*, 2012; 23:167-171.
153. Akbari M, Rouhani A, Samiee S, Jafarzadeh H. Effect of dentin bonding agent on the prevention of tooth discoloration produced by mineral trioxide aggregate. *Int J Dent*, 2012; 2012:563203.
154. Moore A, Howley MF, O'Connell AC. Treatment of open apex teeth using two types of white mineral trioxide aggregate after initial dressing with calcium hydroxide in children. *Dent Traumatol*, 2011; 27:166-173.
155. Orosco FA, Bramante CM, Garcia RB, Bernardineli N, de Moraes IG. Sealing ability, marginal adaptation and their correlation using three root-end filling materials as apical plugs. *J Appl Oral Sci*, 2010; 18:127-134.
156. Chong BS, Pitt Ford TR, Hudson MB. A prospective clinical study of Mineral Trioxide Aggregate and IRM when used as root-end filling materials in endodontic surgery. *Int Endod J*, 2009; 42:414-420.
157. Chong BS, Pitt Ford TR, Hudson MB. A prospective clinical study of Mineral Trioxide Aggregate and IRM when used as root-end filling materials in endodontic surgery. *Int Endod J*, 2003; 36:520-526.
158. Cehreli ZC, Sara S, Uysal S, Turgut MD. MTA apical plugs in the treatment of traumatized immature teeth with large periapical lesions. *Dent Traumatol*, 2011; 27:59-62.
159. Alanezi AZ, Jiang J, Safavi KE, Spangberg LS, Zhu Q. Cytotoxicity evaluation of endosequence root repair material. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2010; 109:e122-125.
160. Damas BA, Wheeler MA, Bringas JS, Hoen MM. Cytotoxicity comparison of mineral trioxide aggregates and EndoSequence bioceramic root repair materials. *J Endod*, 2011; 37:372-375.
161. Nair U, Ghattas S, Saber M, Natera M, Walker C, Pileggi R. A comparative evaluation of the sealing ability of 2 root-end filling materials: an in vitro leakage study using *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2011; 112:e74-77.
162. Candeiro GT, Correia FC, Duarte MA, Ribeiro-Siqueira DC, Gavini G. Evaluation of radiopacity, pH, release of calcium ions, and flow of a bioceramic root canal sealer. *J Endod*, 2012; 38:842-845.
163. Loushine BA, Bryan TE, Looney SW, Gillen BM, Loushine RJ, Weller RN, et al. Setting properties and cytotoxicity evaluation of a premixed bioceramic root canal sealer. *J Endod*,

2011; 37:673-677.

164. Nagas E, Uyanik MO, Eymirli A, Cehreli ZC, Vallittu PK, Lassila LV, et al. Dentin moisture conditions affect the adhesion of root canal sealers. *J Endod*, 2012; 38:240-244.

165. Ciasca M, Aminoshariae A, Jin G, Montagnese T, Mickel A. A comparison of the cytotoxicity and proinflammatory cytokine production of EndoSequence root repair material and ProRoot mineral trioxide aggregate in human osteoblast cell culture using reverse-transcriptase polymerase chain reaction. *J Endod*, 2012; 38:486-489.

166. Hirschman WR, Wheeler MA, Bringas JS, Hoen MM. Cytotoxicity comparison of three current direct pulp-capping agents with a new bioceramic root repair putty. *J Endod*, 2012; 38:385-388.

167. Lovato KF, Sedgley CM. Antibacterial activity of endosequence root repair material and proroot MTA against clinical isolates of *Enterococcus faecalis*. *J Endod*, 2011; 37:1542-1546.

168. Leal F, De-Deus G, Brandao C, Luna A, Souza E, Fidel S. Similar sealability between bioceramic putty ready-to-use repair cement and white MTA. *Braz Dent J*, 2013; 24:362-366.

169. Shokouhinejad N, Nekoofar MH, Ashoftehyazdi K, Zahraee S, Khoshkhounejad M. Marginal adaptation of new bioceramic materials and mineral trioxide aggregate: a scanning electron microscopy study. *Iran Endod J*, 2014; 9:144-148.

170. Chung H, Kim M, Yang W, Ko H. An interesting healing outcome of a replanted immature permanent tooth: a case report. *Dent Traumatol*, 2011; 27:77-80.

171. Fogel HM, Peikoff MD. Microleakage of root-end filling materials. *J Endod*, 2001; 27:456-458.

172. Tang HM, Torabinejad M, Kettering JD. Leakage evaluation of root end filling materials using endotoxin. *J Endod*, 2002; 28:5-7.

173. Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Abad EC, Castro AJ, Gahyva SM, Favieri A. Ability of three root-end filling materials to prevent bacterial leakage. *J Endod*, 2001; 27:673-675.

174. Wu MK, Kontakiotis EG, Wesselink PR. Long-term seal provided by some root-end filling materials. *J Endod*, 1998; 24:557-560.

175. Vogt BF, Xavier CB, Demarco FF, Padilha MS. Dentin penetrability evaluation of three different dyes in root-end cavities filled with mineral trioxide aggregate (MTA). *Braz Oral Res*, 2006; 20:132-136.

176. Bidar M, Moradi S, Jafarzadeh H, Bidad S. Comparative SEM study of the marginal adaptation of white and grey MTA and Portland cement. *Aust Endod J*, 2007; 33:2-6.

## **RESUMEN EN ESPAÑOL**

## INTRODUCCIÓN

Los tejidos reaccionan contra los potenciales microorganismos invasores a través de una reacción inmunológica cuando el complejo dentino-pulpar está afectado. Si este proceso no es erradicado a través de procesos naturales o procedimientos operatorios, los microorganismos invaden el complejo venciendo sus defensas naturales, causando patología<sup>9</sup>. Estas infecciones están, en su mayoría, causadas por microorganismos anaerobios<sup>9,17</sup>.

El tratamiento endodóncico se basa en la prevención y eliminación de la infección bacteriana, a través de la correcta instrumentación y desinfección del sistema de conductos. No obstante, la obturación debe sellar completamente todo el sistema radicular, impidiendo la reinfección, tanto por la supervivencia de los microorganismos que consiguen superar los pasos anteriores como por la microfiltración apical y coronal<sup>12, 38</sup>.

Cuando los dientes con formación incompleta de la raíz sufren necrosis pulpar, debido a traumatismos o a caries, el desarrollo radicular se interrumpe y, en consecuencia, el conducto permanece ancho con paredes finas y frágiles y el ápice se mantiene abierto<sup>59-62</sup>. El tratamiento endodóncico del conducto se convierte, de este modo, en un desafío<sup>59, 74, 75</sup>. En estos casos, para obtener una buena condensación del material de obturación endodóncico y promover un buen sellado apical, es imperativo crear una barrera apical o inducir el cierre del foramen apical con tejido calcificado<sup>59-62, 74, 79, 80</sup>.

La apicoformación se puede definir como un método para inducir la formación de una barrera de tejido calcificado en dientes con raíces incompletas y necrosis pulpar<sup>59, 60</sup>. El objetivo de este tratamiento es crear una barrera apical para permitir la compactación del material de obturación endodóncico e impedir el intercambio de bacterias y toxinas entre el conducto y los tejidos periapicales<sup>59, 60</sup>. El hidróxido de calcio ha sido sugerido a lo largo de muchos años como material de elección para este tratamiento, con el objetivo de

promover el cierre apical, induciendo la formación de una barrera de tejido calcificado<sup>59-62, 74, 75, 80, 85</sup>.

La técnica de apicoformación convencional a través de la utilización de hidróxido de calcio fue descrita por primera vez por Kaiser en 1964 y más tarde se tornó popular gracias a Frank. Esta técnica se convirtió en un procedimiento clínico con resultados muy positivos, presentando tasas de éxito que varían entre el 87 y el 95 % según refieren varios autores. Sin embargo, a pesar de su eficacia, esta técnica tiene algunas desventajas como: una gran variabilidad y duración del tiempo total del tratamiento; elevado número de consultas; elevado número de radiografías realizadas a lo largo del tratamiento; dificultad en el control periódico de los pacientes; repercusión estética (relacionada con cualquier tratamiento dental en la zona anterior); vulnerabilidad de la restauración temporal a la reinfección debido al elevado tiempo de exposición; elevado riesgo de fractura, subyacente a todos los tratamientos de larga duración; y, la repercusión económica asociada a las múltiples consultas requeridas hasta finalizar el tratamiento<sup>59-62, 74, 75, 85</sup>.

Teniendo en cuenta todos estos aspectos, un tratamiento alternativo a la apicoformación convencional con  $\text{Ca(OH)}_2$  deberá ser capaz de ofrecer mejores y más previsibles pronósticos a largo plazo para dientes comprometidos<sup>85</sup>.

La barrera apical artificial conseguida mediante una variedad de materiales ha sido sugerida, a lo largo del tiempo, como alternativa al procedimiento tradicional<sup>74, 75, 85</sup>. En 1999 Torabinejad y Chivian publicaron un artículo en el que se recomendaba la utilización del "*Mineral Trioxide Aggregate*" (MTA) como barrera apical artificial y desde ese momento se convirtió en el material de elección para ese propósito y así lo manifiestan diversos autores con sus estudios<sup>63</sup>. Estos trabajos demuestran que la utilización del MTA como alternativa al hidróxido de calcio puede contrarrestar las desventajas que tiene el tratamiento convencional.

La capacidad de sellado del MTA y su adaptación marginal ya fueron ampliamente estudiadas, sin embargo no existen estudios que las relacionen entre ellas, bien como con los diferentes diámetros apicales que podemos encontrar en tratamientos de dientes inmaduros con ápices abiertos. La ausencia de un estudio de este tipo justifica la realización de este trabajo.

## **OBJETIVOS**

### **1 - Objetivo General**

Caracterizar la adaptación marginal del MTA a las paredes de los conductos radiculares en raíces con ápices abiertos.

### **2 - Objetivos Específicos**

2.1 – Medir la filtración apical de un colorante en el tercio apical de dientes que simulan la presencia de ápices abiertos cuando son obturados con MTA, a través de la observación con un microscopio confocal láser.

2.2.- Establecer la penetración máxima de un colorante en el interior de los túbulos dentinarios en los casos de filtración de colorante en dientes que simulan la presencia de ápices abiertos cuando son obturados con MTA, a través de la observación con un microscopio confocal láser.

2.3.- Medir el ajuste del MTA a las paredes del conducto desde su extremo apical mediante la observación con microscopio electrónico de barrido, registrando la máxima desadaptación.

2.4. - Determinar la influencia del diámetro apical sobre la adaptación marginal del MTA sobre las paredes de los conductos radiculares.

2.5.- Comparar los resultados proporcionados por las dos técnicas microscópicas de observación utilizadas.

## METODOLOGÍA

### 1 –Busqueda bibliográfica

La busqueda bibliográfica fue efectuada a través de internet, por medio del motor de búsqueda PubMed MEDLINE, con los descriptores: “MTA”, “*Mineral Trioxide Aggregate*”, “*apexification*”, “*immature teeth*”, “*open apex*” e “*apical plug*”, sin límites de fechas. Solo fueron utilizados artículos escritos en inglés. Esta investigación fue complementada a través de una búsqueda en revistas científicas de relevancia en el área no incorporadas en PubMed.

También fue utilizada la categoría “*related articles*” en los artículos encontrados en el PubMed para mejorar la búsqueda bibliográfica. Además, también se consultaron algunos artículos a través de la bibliografía proporcionada por los artículos de la búsqueda inicial, por contener información adicional de especial interés para complementar el tema.

### 2 - Materiales

#### 2.1 – Muestra

##### 2.1.1 – Tamaño de la muestra

Fueron utilizados 66 dientes unirradiculares, extraídos y almacenados en una solución de formol al 10%. Veinticuatro horas antes de su utilización fueron lavados en agua corriente hasta su manipulación (fig. 1).

#### 2.1.2 – Criterios de inclusión

La existencia de un único conducto fue comprobada por medio de radiografías captadas mesio-distalmente en el diente y con la exploración del conducto con una lima K nº 10. Ninguna raíz presentaba caries, ápice abierto, ni resorción o fractura.

Los dientes fueron divididos aleatoriamente en cuatro grupos:

**Grupo A:** 20 dientes

**Grupo B:** 20 dientes

**Grupo C:** 20 dientes

**Grupo D (grupo de control):** 6 dientes

### 2.2 – Instrumentos

#### 2.2.1 – Motor endodóncico

La instrumentación fue hecha con el motor endodóncico X-Smart (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suiza) con una velocidad constante de 250 rpm y un torque determinado para cada lima de acuerdo con las instrucciones del fabricante (fig. 2).

#### 2.2.2 - Limas

Las limas utilizadas fueran las limas Protaper® (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suiza), SX, S1, S2, F1, F2 e F3, de acuerdo con las instrucciones del fabricante y limas K (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suiza) para la instrumentación manual (fig. 3).

### 2.2.3 – Máquina de desgaste

Todos los dientes fueron cortados con una máquina de desgaste Grinder/Polisher Model 900 (South Bay Technology, San Clemente, USA). Fueron utilizados 3 discos abrasivos (Wolfcraft GmbH, Kempenich, Germany), resistentes al agua, de diferentes niveles abrasivos (de mayor a menor grano, 80, 320 y 1000) pasando en último lugar un cuarto disco, de fieltro, juntamente con una pasta abrasiva, para pulir las superficies (fig. 4).

### 2.2.4 – Aplicador de MTA

Fue utilizado el sistema “MTA Gun System” o “ProRoot MTA Delivery Gun” (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suiza) para obtener de una forma más precisa la barrera de MTA en la zona apical del conducto (fig. 5).

### 2.2.5 – Condensadores verticales

Fueron utilizados condensadores verticales (VDW, Múnich, Alemania), para la condensación del MTA (fig. 6).

### 2.2.6 – Material de Obturación.

El material de obturación utilizado en este estudio fue el MTA -*Mineral Trioxide Aggregate*- (ProRoot® MTA; Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suiza) (fig. 7). Fue utilizada la fórmula blanca de este material.

### 2.2.7 - Colorante

Se utilizó una solución colorante de isotiocianato de Rodamina B (C.I. 45170),  $C_{28}H_{31}ClN_2O_3$  (Sigma-Aldrich, St Louis State, MO, USA).

### **3 – Procedimiento.**

#### 3.1- Preparación de la muestra.

Fueron efectuadas cavidades de acceso en todos los dientes y con una lima K del nº 10 se efectuó la permeabilización en toda la extensión del conducto, así como del foramen apical. La longitud de trabajo fue determinada introduciendo la lima hasta ser visible por el foramen apical.

#### 3.2- Preparación biomecánica.

Todos los conductos fueron instrumentados por la técnica de rotación continua con el sistema Protaper® (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suiza) siguiendo la secuencia definida para el sistema hasta la lima F3, seguido de instrumentación manual conforme lo establecido para cada uno de los grupos con sobreinstrumentación en la instrumentación manual de 2 mm.

Durante la instrumentación todos los conductos fueron irrigados con hipoclorito sódico al 5,25% (fabricado en el laboratorio) entre lima y lima, finalizando la irrigación con EDTA al 17% (fabricado en el laboratorio) e hipoclorito para remover el barrillo dentinario.

#### 3.3 - Grupos de estudio:

Después de la instrumentación de los conductos a través de la técnica de rotación continua se realizó una instrumentación manual a partir de la lima K nº 35 hasta las limas K nº 60, 80 y 100 distribuyendo de esta forma la muestra en los 3 grupos de estudio.

**Grupo A:** 20 dientes fueron instrumentados a través de la técnica de rotación continua definida seguida de instrumentación manual hasta lima K nº 60 con sobreinstrumentación de 2 mm.

**Grupo B:** 20 dientes fueron instrumentados a través de la técnica de rotación continua definida seguida de instrumentación manual hasta lima K nº 80 con sobreinstrumentación de 2 mm.

**Grupo C:** 20 dientes fueron instrumentados a través de la técnica de rotación continua definida seguida de instrumentación manual hasta lima K nº 100 con sobreinstrumentación de 2 mm.

**Grupo D (grupo de control):** 6 dientes instrumentados de acuerdo con la técnica ya referida de los cuales 2 fueron instrumentados hasta lima K nº 60, 2 hasta lima K nº 80 y los otros 2 hasta K nº 100.

El MTA fue preparado de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Inmediatamente después de la preparación, el MTA fue aplicado en el interior del conducto con la ayuda del sistema "ProRoot® MTA Delivery Gun" y condensado a través de condensadores verticales. Fueron utilizados conos de papel de tamaño 80 para ayudar en la condensación, empujar los excesos de MTA que quedaban en las paredes del conducto hacia la zona apical y remover el exceso de humedad. Este método de condensación fue repetido hasta que fueron creados 6 mm de barrera apical de MTA para permitir la posterior obtención de cortes transversales hasta los 5 mm. Para ayudar en la medición, se utilizó un condensador vertical con el tope de goma colocado a 6 mm de la longitud de trabajo (LT) y se efectuaron controles radiográficos regularmente. Cuando se verificaron lagunas en el control radiográfico se removió todo el material y el proceso fue repetido de nuevo. Después de la condensación, se colocó una bolita de algodón estéril humedecida en la entrada del conducto, la cavidad de acceso fue sellada con un material de restauración provisional (Cavit®) y los dientes fueron colocados en un medio con el 100 % de humedad durante 24h, durante el fraguado del MTA.

### 3.4 – Observación y análisis.

La superficie externa de los dientes fue totalmente impermeabilizada con una capa de cola de cianocrilato seguido de un barniz de las uñas, dejando una extensión de 2mm alrededor del foramen apical.

Se hicieron controles positivos y negativos. Fueron utilizados 6 dientes, 2 de ellos instrumentados como se ha descrito en el grupo A, otros 2 como en el grupo B y los restantes 2 como en el grupo C. De cada pareja de estos dientes, uno fue impermeabilizado de forma semejante a todos los dientes pero no fue obturado con MTA (control positivo) y el otro fue totalmente impermeabilizado, inclusive el foramen apical, después de haber sido obturado con MTA (control negativo). En cada grupo de estudio se utilizaron 1 diente para el control positivo y otro diente para el control negativo y así se utilizaron 6 dientes control para el conjunto de los grupos (Tabla 1).

La muestra fue colocada en un modelo de penetración de colorantes con una solución de Rodamina B. Se hicieron agujeros en varios frascos de plástico y los dientes fueron fijados en los agujeros con cianoacrilato, con los 2 mm más apicales hacia el interior de los frascos. Se colocó la solución de Rodamina B al 0,1% (10gr por litro) en los frascos de modo que cubriera la totalidad del ápice durante un periodo de 48 h a 37°C. Esto permitió, posteriormente, identificar la entrada del colorante en las preparaciones, al ser observadas mediante microscopia confocal láser.

Los conductos fueron seccionados longitudinalmente en cortes de 1mm de grosor con la máquina de desgaste Grinder/Polisher 900. Para ello se utilizaron 3 discos abrasivos, resistentes al agua, de diferentes niveles abrasivos, pasando en último lugar un cuarto disco, de fieltro, juntamente con una pasta abrasiva, para pulir las superficies.

El diente, después de seccionado, se colocó en un porta y se fijaron con un sistema adhesivo *ad hoc* (Eukitt – O.Kindler GmbH, Freiburg, Germany).

Los cortes fueron utilizados para la lectura de la filtración apical con un microscopio confocal a láser y posteriormente con un microscopio electrónico de barrido.

#### 3.4.1 – Microscopio confocal láser

Se utilizó un microscopio Leica TCS SP2 con el software LCS (fig. 8).

Para la observación con este microscopio se utilizó el colorante fluorescente Rodamina B al 0,1%. Este colorante es un polvo que da origen a un color rojo en las imágenes.

Toda la muestra fue observada con este microscopio y se captaron imágenes de todos los especímenes con un objetivo de 20 aumentos. El láser utilizado fue el de Ar/HeNe con una longitud de onda de 543nm.

Las imágenes fotográficas digitales fueron obtenidas a través del programa Leica Confocal Software (Leica Microsystems Heidelberg GmbH), versión *2.6 build 1538 Lcs Lite*, y fueron utilizadas para visualizar y medir el grado de penetración del colorante en la interface MTA-dentina. Fue seleccionada la zona de cada imagen que presentaba mayor filtración de colorante al largo de la interfase. La medición de la filtración se efectuó en el sentido longitudinal, o sea, desde el ápex hasta la zona coronal.

#### 3.4.2 – Microscopio electrónico de barrido

Se utilizó, en este caso, un microscopio Hitachi S-4100 (Orochimaru, Tokio, Japón) (fig. 9).

Toda la muestra fue observada con este microscopio y para eso los cortes fueron colocados en placas de soporte de aluminio específicas para MEB. Las placas fueron colocadas en una cámara de vacío, para ser revestidas con una película de oro-paladio.

Se obtuvieron fotomicrografías con una ampliación de 40x de todas las barreras apicales y específicamente en cada corte de las zonas de mayor desadaptación a 300x. Fueron medidas las desadaptaciones a través del *software* Image J. En cada corte fue seleccionada la zona de mayor desadaptación y las medidas fueron hechas en sentido transversal, desde el material hacia la pared.

Todos los datos fueron analizados estadísticamente.

#### **4 – Análisis Estadístico**

Para describir los datos del estudio se realizaron análisis descriptivos apropiados. Las variables categóricas fueron descritas a través de frecuencias absolutas (n) y relativas (%), las variables continuas fueron descritas utilizando medianas, mínimos y máximos, ya que la distribución de éstas es asimétrica.

Para relacionar el nivel de infiltración del colorante (representado en milímetros) y la adaptación marginal (representada en micrómetros) en los diferentes calibres utilizados (60, 80 y 100) fueron aplicados el test no paramétrico de Kruskal-Wallis (£), para comparaciones entre los 3 tipos de calibre, y el test no paramétrico de Mann-Whitney (§) para comparaciones entre los calibres dos a dos, una vez que estas dos variables continuas presentan distribución asimétrica.

Para estudiar las asociaciones entre el nivel de filtración y la adaptación marginal para los calibres 60, 80 y 100, fueron calculados los coeficientes de correlación de Spearman, siendo presentados los respectivos diagramas de dispersión.

En todos los tests de hipótesis fue considerado un nivel de significación de 0,05 ( $\alpha=5\%$ ).

Todos los datos fueron analizados con el programa de análisis estadístico SPSS® v.18.0 (*SPSS inc. Released 2009. PASW Statistics for Windows, V.18.0. Chicago, USA*).

## RESULTADOS Y DESARROLLO ARGUMENTAL

### Descripción de los resultados

Después de se efectuaren la mediciones de la filtración apical de colorante (mm), a través de las imágenes digitales obtenidas por microscopia confocal a laser y de la desadaptación máxima del MTA a las paredes radiculares ( $\mu\text{m}$ ), a través de imágenes digitales obtenidas por MEB, se hicieron tablas para los resultados de cada diámetro apical (tabla 1, 2 y 3).

Después del registro de los valores de filtración de colorante en la interface entre la barrera apical de MTA y las paredes radiculares, obtenidos a través de las imágenes fornecidas por el microscopio confocal a laser, fue posible observar que el valor medio de filtración aumentó a medida que se aumentó también el diámetro apical (tabla 1, 2 y 3).

A través de imágenes digitales ofrecidas por el MEB, fue posible observar e registrar los valores de desadaptación máxima del MTA a las paredes radiculares en los diferentes diámetros apicales. Los valores medios de desadaptación máxima del MTA son menores en el grupo con calibre 60 comparativamente a los otros 2 grupos (tabla 1, 2 y 3).

Adicionalmente al registro de los valores de filtración apical de colorante, a través del microscopio confocal a laser fue posible también observar y registrar los valores de penetración máxima de colorante en los tubulos dentinarios (figuras 12 y 13). A pesar de ni siempre visible en todos los cortes, fue posible registrar un nivel máximo de penetración tubular de  $1479 \mu\text{m}$ .

La muestra estuvo constituida por 60 dientes, siendo que fueron excluidos en el total 8 (13%) dientes, 3 (15%) en el calibre 60, 2 (10%) en el calibre 80 y 3 (15%) en el calibre 100 (tabla 4 y grafico 1).

### 1 – Capacidad de sellado del MTA

A través de los valores registrados en cada tabla (tablas 1, 2 y 3) fue posible determinar la influencia del diámetro apical en la capacidad de sellado del MTA (tabla 5).

El valor mediano de la filtración del colorante para el calibre 60 fue igual a 2, variando entre 1 y 5, para el calibre 80 los valores fueron, valor mediano igual a 3,26 variando entre 1 y 4,70 siendo más elevados para el calibre 100, respectivamente, 3,70 y variando entre 1 y 5, no siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p=0,508$ ) (tabla 5 e grafico. 2).

A pesar de un ligero aumento de los valores de filtración apical en ápices de mayor calibre, no existieron diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los grupos de estudio ( $p>0,05$ ) (tabla 5 e grafico. 2).

No existe, de esta forma, una influencia de forma significativa del diámetro del ápice sobre la capacidad de sellado del MTA (tabla 5 y grafico 2).

### 2 – Adaptación marginal del MTA

En relacion a la adaptación marginal del MTA a las paredes radiculares, fueron registrados los valores de la desadaptación máxima verificada por corte, para cada uno de los grupos, después de medición en las imágenes obtenidas a través de MEB (tablas 1, 2 y 3). A través de estas mediciones fue determinada la influencia del diámetro apical en la adaptación marginal del MTA.

El valor mediano de la desadaptación máxima de MTA observada en ápice de calibre 60 fue de 15, variando de 0 a 173, siendo que para el calibre 80 se obtuvo un valor mediano de 79,5 variando de 0 a 156 y para el calibre 100 un valor mediano de 83 con un valor mínimo de 0 y un máximo también de 156 (tabla 6 y grafico 3).

Estas diferencias en los valores encontrados para cada grupo de diferente diámetro apical, relativamente a la desadaptación máxima de MTA observada, son diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,020$ ) (tabla 6 y grafico 3).

Entre cada grupo se han verificado diferencias estadísticamente significativas apenas entre el calibre 60 y el 100 ( $p=0,011$ ). Entre el calibre 60 y 80, a pesar de las diferencias acentuadas, se obtuvo un valor de  $p=0,022$  lo que, por la corrección de Bonferroni, aún es superior al nivel de significancia de 0,0167 (tabla 6 y grafico 3).

Existe, de esta forma, una influencia de forma significativa del diámetro del ápice sobre la adaptación marginal del MTA (tabla 6 y grafico 3).

### 3 – Correlación entre la filtración apical de colorante y la adaptación marginal de MTA

Por último, a través del registro de los valores obtenidos para la filtración apical de colorante y en relación a la adaptación marginal de MTA para cada diámetro apical, fue posible determinar la existencia de una posible correlación entre ambos.

A través de los coeficientes de correlación de Spearman fue posible determinar que no existe correlación entre la filtración apical y la adaptación marginal de MTA, quiere a nivel general quiere por cada grupo de estudio ( $p>0,05$ ) (tablas 7 y 8 y graficos 4, 5, 6 y 7).

## **DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS Y DEL PROCEDIMIENTO**

Varios autores indicaron el MTA como alternativa más promisoro al hidróxido de calcio, de forma a crear una barrera apical artificial y se conseguir una buena condensación del

material de obturación, promoviendo al mismo tiempo un buen sellado apical con elevada tasa de biocompatibilidad<sup>59-63, 74, 79, 80, 83, 85, 86, 101</sup>.

La capacidad de sellado del MTA y su adaptación marginal ya fueron ampliamente estudiadas, sin embargo no existen estudios que las relacionen entre ellas, bien como con los diferentes diámetros apicales que podemos encontrar en tratamientos de dientes inmaduros con ápices abiertos. La ausencia de un estudio de estos está en la base de la realización de este trabajo.

## **1 – En relación al procedimiento:**

Este trabajo tiene como objetivo caracterizar la adaptación marginal del MTA a las paredes de los conductos radiculares en raíces con ápices abiertos, sea por medición del ajuste del MTA a las paredes del conducto desde su extremo apical, sea por medición de la filtración apical de un colorante, determinando la influencia del diámetro apical en esa adaptación a través de la utilización de dos técnicas microscópicas de observación diferentes.

Se utilizaron dientes monoradiculares como muestra e se opto por la manutención de las coronas dentarias durante todo el procedimiento para una aproximación, lo más posible, a la realidad clínica, reflectando con mayor proximidad las dificultades técnicas inherentes a la ejecución de este tipo de procedimiento.

Varias técnicas in vitro se han utilizado para determinar el grado de filtración permitido por varios tipos de materiales de obturación retrograda<sup>121</sup>. Los resultados de los estudios in vitro están dependientes del tipo de modelo utilizado y de la dificultad en extrapolar la naturaleza dinámica de los patrones de filtración entre el diente y los tejidos periapicales in vivo<sup>121</sup>.

La metodología elegida para este estudio, para la medición de la filtración apical, fue descrita por Grossman en 1939 y consiste en la medición de la penetración del agente colorante en el conducto obturado, que penetra en las interfaces vacías entre los materiales de obturación y las paredes del conducto.

La capacidad de los materiales de obturación retrograda para promover el sellado apical ha sido probada a través de varios métodos, tal como, los modelos de penetración de colorantes, radioisótopos, bacterias, endotoxina, la medición de acción electroquímica, la técnica de filtración de fluidos (también conocida como método de transporte de fluidos) y el recurso al microscopio electrónico de barrido (MEB)<sup>116, 120, 124, 141, 171, 172</sup>.

El método más utilizado al largo de los años para determinar la capacidad de sellado ha sido la técnica de penetración de colorantes y la técnica de filtración de bacterias<sup>99, 114, 120, 121, 123, 141, 173, 174</sup>.

La mayor desventaja de la técnica de filtración de bacterias en relación a la de colorantes es el hecho de que basta la penetración de una bacteria para indicar culturas positivas y la extrapolación de los resultados puede de esa forma no ser la más correcta<sup>99</sup>.

El método de penetración de colorantes está referenciado como un método de fácil ejecución para evaluar la capacidad de sellado de los materiales de obturación y tiene en consideración tanto la filtración coronal como apical, cuando evalúa las obturaciones radiculares<sup>114, 124</sup>.

A pesar de su popularidad, los estudios que utilizan la penetración de colorantes tienen varias desventajas. El tamaño molecular de la mayor parte de las partículas de colorantes es menor que lo de las bacterias, pudiendo sugerir resultados falsos porque los colorantes pueden penetrar hasta donde las bacterias no pueden<sup>115, 120, 123, 134, 173</sup>.

Esta limitación es relativa, existiendo autores que defienden la utilización de este método, visto que, se un determinado material impedir la penetración de moléculas tan pequeñas como los colorantes, tendrá potencialidades para prevenir la infiltración de sustancias mayores como las bacterias y sus subproductos<sup>124, 133</sup>. Sin embargo la mayor desventaja de este tipo de estudios se refiere a su capacidad de medición del grado de filtración en un solo plano, lo que hace imposible evaluar la filtración total<sup>115, 120, 134, 173</sup>.

De referir también que, cuando comparados con condiciones clínicas, los estudios *in vitro* son estáticos y no reflejan la interacción dinámica entre los conductos radiculares y los tejidos periapicales<sup>120, 121</sup>.

No existiendo una evidencia clara de que un determinado método sea superior a otro, el uso de los colorantes tiene la ventaja de fornecer datos cuantitativos a través de la medición linear de su penetración<sup>141</sup>.

Sin embargo se debe tener en cuenta la variación de los resultados con la utilización de diferentes colorantes<sup>134</sup>. Ya fueron referidas discrepancias en los patrones de filtración del azul de metileno y de la tinta china en dientes obturados, habiendo sido encontrado un nivel mayor y una variación más acentuada, en la filtración del azul de metileno que en la tinta china, en los grupos experimentales utilizados<sup>134</sup>.

Existen estudios que demuestran que el tamaño molecular de las partículas del azul de metileno es comparable al de los pequeños productos metabólicos bacterianos<sup>121</sup>.

Por otro lado, Wu et al. (1998) después de un estudio, refirió que el azul de metileno sufre descoloración cuando en contacto con algunos materiales alcalinos, lo que puede causar resultados irreales en relación a los materiales evaluados en esos estudios de filtración<sup>155</sup>. De acuerdo con este autor el MTA provoca una reducción de 73% en la densidad óptica del

azul de metileno, lo que puede conducir a resultados falsos en los estudios de microfiltración<sup>175</sup>.

La descoloración del azul de metileno ocurre debido a su inestabilidad cuando en contacto con materiales alcalinos que causan la hidrólisis del colorante resultando en la formación de un compuesto claro llamado tionina<sup>155</sup>. Esto puede explicar porque el azul de metileno es descolorado por el hidróxido de calcio<sup>155</sup>.

En relación al MTA, lo mismo se puede relacionar dado que, durante la reacción de hidratación libera hidróxido de calcio, a pesar de este compuesto no hacer parte de su constitución<sup>119, 128, 132</sup>. La liberación de hidróxido de calcio puede ser explicada por el hecho del MTA contener en su composición óxido de calcio capaz de reaccionar con iones hidroxilo para formar el hidróxido de calcio referido, provocando de esta forma la referida descoloración del azul de metileno<sup>119, 132</sup>.

En este trabajo se utilizó como colorante Rodamina B, pues de acuerdo con Moraes et al. (2005) y Tanomaru Filho et al. (2005), la Rodamina B no es influenciada por materiales alcalinos<sup>155</sup>.

En los estudios de penetración de colorantes la infiltración se puede evaluar de forma cualitativa o cuantitativa. En este estudio, fue utilizado un análisis cuantitativo, utilizando imágenes digitales obtenidas por microscopio confocal a laser y software de medición.

A través de la microscopía confocal, cuya creación es atribuida a Marvin Minsky en 1955, podemos visualizar la penetración del colorante en la interface entre material y paredes dentinarias, utilizando la fluorescencia en la adquisición de imágenes.

La evaluación de la adaptación marginal de los materiales a las superficies dentarias es una técnica frecuentemente asociada a la utilización de la microscopia electrónica de barrido.

En estudios previos de evaluación de la adaptación marginal con Microscopio Electrónico de Barrido, las interfaces entre los materiales y las paredes del conducto radicular se han evaluado en muestras con dientes originales, en réplicas de resina o en ambos<sup>68, 169</sup>.

En este estudio se optó por utilizar los dientes originales como muestra para análisis en el MEB, de forma semejante a lo que hizo en su estudio Orosco et al. (2010), en que esta metodología presentó resultados satisfactorios<sup>155</sup>. Sin embargo, durante la preparación de la muestra para observación en el MEB fueron perdidos, en la totalidad, 6 cortes. Las imágenes de estos cortes presentaban *cracks* longitudinales en la interface entre el material y la pared del conducto radicular.

De acuerdo con Torabinejad et al. (1995) la ocurrencia de *cracks* debe estar relacionada con el proceso de preparación de la muestra para observación al MEB, en que los cortes son cubiertos por una película fina de oro-paladio bajo temperaturas críticas<sup>68</sup>.

Algunos autores refieren que la preparación convencional de la muestra biológica para observación al MEB puede estar asociada a la presencia de artefactos<sup>169, 176</sup>. La alta evaporación en vacuo y la deshidratación pueden causar artefactos por la inducción de cracks en los tejidos duros, levantamiento o separación de los materiales en relación al tejido dentario adyacente<sup>169, 176</sup>. Adicionalmente puede haber también expansión o contracción del diente y/o del material de obturación<sup>176</sup>. La evaluación de la adaptación marginal a través de réplicas de resina, ha sido así sugerida como alternativa para evitar este tipo de problemas<sup>169</sup>.

En relación al protocolo de irrigación, fue utilizado el hipoclorito de sodio alternado con EDTA, que es un protocolo descrito en la literatura actual como protocolo para remoción

del barrillo dentinario, teniendo en cuenta un mayor suceso en el tratamiento endodóntico<sup>68</sup>.

La cantidad de información disponible en la literatura aún no es clara cuanto al efecto del barrillo dentinario en la capacidad de sellado del MTA al largo del tiempo<sup>68</sup>.

De acuerdo con Yildirin et al. (2008) la microfiltración apical es menor en la presencia de barrillo dentinario cuando el MTA es utilizado como material en el tratamiento de dientes inmaduros con ápice abierto<sup>68</sup>. En sentido contrario, Araújo et al. (2013) refirió que en su estudio no fueron encontradas diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales en presencia o ausencia de barrillo dentinario<sup>68</sup>.

El espesor de la barrera apical de MTA creada en este modelo de simulación de dientes inmaduros fue de 5mm en todos los grupos. Este espesor está de acuerdo con lo sugerido por la literatura que refiere que un espesor de barrera apical de 4 a 5mm es la más indicada para prevenir la filtración en relación a este material<sup>69, 155</sup>.

## **2 – En relación a los resultados:**

La capacidad de sellado de los materiales de obturación es esencial para el suceso del tratamiento, ya que es el sellado de la raíz que impide la movimentación de fluidos, microorganismos y sus productos entre los canales radiculares y el tejido periapical<sup>1, 114-123</sup>.

Esta característica puede ser determinada directamente, a través de la verificación del nivel de filtración que los materiales permiten, o indirectamente, por la verificación de la adaptación marginal de los materiales a las raíces seccionadas, a través de zonas de discontinuidad entre ellos<sup>116, 123, 124</sup>.

El control positivo sirvió para asegurar que había penetración apical de colorante y el control negativo probó que el ápice es la única vía para penetración del colorante.

En relación a la infiltración apical, y a pesar de existieren diferencias en la metodología del estudio, olvidando la variabilidad de diámetro apical, de una forma general los resultados que se obtuvo en este estudio van al encuentro de los resultados obtenidos, en relación al MTA, por Orosco et al. (2010). De acuerdo con el estudio de ese autor el nivel medio de filtración permitido por el MTA fue inferior a 4mm, así como demostrado en este trabajo. Existían, de cualquier forma, diferencias relativamente a las formulas de MTA que se utilizaron en cada estudio, dado que, al revés del trabajo de Orosco et al. se utilizó MTA blanco en este estudio.

En un estudio de Stefopoulos et al. (2008) en que fue comparada la capacidad de sellado del MTA gris con el MTA blanco, fueron obtenidos resultados semejantes, sin diferencias estadísticamente significativas, entre los dos tipos de MTA, comprobando que el MTA blanco puede atingir los mismos niveles de sellado que la formula gris. Estos resultados son contrarios a los de Matt et al. (2004) que, en un estudio similar, encontró diferencias en la capacidad de sellado, refiriendo que el MTA gris presentó mejores resultados<sup>74</sup>. Estos resultados deben ser, sin embargo, analizados con algunas reservas dado que, utilizaron como colorante el azul de metileno que, como sabemos, ya se ha demostrado sufrir alteraciones de descoloración cuando utilizado en estudios con MTA gris<sup>74</sup>.

En relación a la evaluación de la capacidad de sellado del MTA en los diferentes grupos de estudio fue posible comprobar que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes diámetros apicales simulados ( $p>0,05$ ). De cualquier modo, y a pesar de no existieren diferencias significativas, se observa una tendencia para mayores diámetros apicales presentaren mayores niveles de filtración (tabla 5 y grafico 2).

Los resultados de este estudio están de acuerdo con los obtenidos por Khalilak et al. (2012) que también obtuve resultados similares entre diámetros apicales de 1mm y 1.4mm a

pesar de las diferencias en el modelo de estudio, pues en el trabajo desarrollado por este autor fue utilizado un modelo de filtración de bacterias<sup>69</sup>. Las diferencias que obtuvo, aunque no sean estadísticamente significativas revelan también un creciente aumento de valores de filtración en el grupo con mayor diámetro apical<sup>69</sup>.

De forma similar Adel et al. (2012) comparó la capacidad de sellado entre el MTA y CEM (calcium enriched mixture) en dos diámetros apicales diferentes<sup>99</sup>. A través de la realización de este estudio obtuvo diferencias estadísticamente significativas entre los diámetros, siendo que el grupo de estudio con menor diámetro (1.1mm) presentó menores niveles de filtración que el grupo con diámetros apicales de 1.7mm<sup>99</sup>. Sin embargo el autor del estudio optó por un modelo de filtración de fluidos porque, según refiere, la muestra no es destruida, lo que hace posible una medición longitudinal de la capacidad de sellado<sup>99</sup>. Como pueden ser registrados volúmenes muy pequeños en este método, los resultados son más precisos<sup>99</sup>.

La relación de los menores diámetros apicales con los menores niveles de filtración puede ser atribuida a una menor superficie de contacto del material sometido al medio de filtración, así como a una mejor condensación efectuada en esos conductos<sup>69</sup>. La relación de la barrera apical más estrecha con una mejor absorción de humedad y, por su vez, mejor fraguado del MTA, también fue referida para justificar mejores resultados en estos diámetros más pequeños<sup>69</sup>.

Por su vez, la técnica ortógrada de colocación del MTA para obtención de una correcta barrera apical, es una técnica sensible que presenta algunas dificultades en el proceso de desplazamiento del MTA hasta el ápice<sup>69</sup>. Esta técnica puede tener limitaciones cuanto a la adaptación del material a las paredes dentinarias, conduciendo así a estas diferencias en los resultados<sup>69</sup>.

De igual forma se pueden justificar los resultados obtenidos después de la realización de este trabajo, en que hubo una diferencia estadísticamente significativa en relación a la

adaptación marginal observada por MEB en los diferentes calibres apicales ( $p=0,020$ ). La obtención de la barrera apical de MTA es más delicada a través de la técnica ortógrada en mayores calibres de apices, en que la condensación del material contra las paredes radicales no es conseguida con tanta facilidad (tabla 6 y grafico 3).

Las diferencias entre grupos sugieren eso mismo, dado que entre ápice de calibre 60 y 80 aún no existen diferencias estadísticamente significativas, a pesar de un valor de  $p=0,022$  ( $>0,0167$ ). Un aumento del tamaño de la muestra podría así ser el suficiente para una diferencia significativa. De la misma forma cuando se comparan los calibres mayores (80 con 100) también no existen diferencias significativas, aunque en ese caso con un valor de  $p=0,908$ . Ya cuando se compara los calibres 60 y 100, las diferencias en los resultados son estadísticamente significativas ( $p=0,011$ ).

Después análisis de estos resultados cuanto a la adaptación marginal del MTA en diferentes diámetros apicales, se puede asumir que cuando la diferencia de diámetro no es grande (60 para 80 o 80 para 100) los resultados reflejan diferencias poco acentuadas, pues la ejecución de la técnica no varía tanto cuanto a su dificultad. Cuando la diferencia de diámetro es mayor (60 para 100) el nivel de ejecución técnico varia más y los resultados acaban por comprobar eso. Entre los calibres mayores la ejecución técnica no varía mucho y entonces los resultados muy similares entre los 2 grupos, justificando un valor de  $p=0,908$ .

Hay que hacer la análisis de los resultados obtenidos por MEB con precaución, pues no se encuentra aquí representada la adaptación de dos superficies de contacto en las tres dimensiones.

Sin embargo, por la análisis de las imágenes digitales obtenidas a través de MEB, es claramente perceptible que la predominancia de fallas en la condensación es mayor en la zona más apical y menor en las capas superiores. Estos datos sugieren, de cualquier de las formas, una tendencia para una mejoría en la condensación del material en el sentido

coronal. Ese hecho deberá explicar dada la ausencia de una barrera oponente, junto al ápice, quedando así la condensación de los primeros milímetros del material comprometida. En cuanto se condensa el MTA se va creando una barrera que sirve de base a las capas superiores, e así el material mejor compactado para que no se evidencie tanto la existencia de poros o lagunas como en las zonas cerca del ápice.

Los valores encontrados en este estudio respecto a la adaptación marginal del MTA a las paredes dentinarias son bastante diferentes de los obtenidos por Shokouhinejad et al. (2014) en su trabajo. Ese autor obtuvo valores medios de desadaptación del MTA muy inferiores a los que se obtuvo en este estudio. Los mejores valores obtenidos por Shokouhinejad et al. se pueden fácilmente explicar por la diferencia en el modelo utilizado, pues en su caso el MTA fue utilizado como material de obturación retrograda en cavidades apicales de 3mm simuladas para el efecto<sup>169</sup>. La compactación del MTA en este tipo de técnica permite una mejor adaptación del material en relación a la técnica ortógrada en que no existe una matriz sólida como oponente para una fuerte compactación.

Aun en relación a la filtración, en este trabajo se utilizó la Rodamina B como colorante para medición a través de la visualización con microscopio confocal a laser. La Rodamina B ya demostró en otros estudios una mayor capacidad de penetración cuando comparada con otros colorantes.

De acuerdo con un estudio reciente que hizo la comparación del grado de filtración de 3 colorantes diferentes en raíces obturadas con MTA, la Rodamina presentó el mayor índice de penetración entre los 3 colorantes<sup>175</sup>. En relación al azul de metileno la justificación reside en la, ya comentada, descoloración provocada por la alcalinidad del MTA<sup>175</sup>. En cuanto al nitrato de plata, este presenta un peso molecular inferior al azul de metileno y a la rodamina B, sin embargo, demostró menor filtración apical entre el MTA y las paredes del conducto<sup>175</sup>. El autor sugirió como hipótesis que algún tipo de reacción química ocurre entre colorante y material<sup>175</sup>.

De esta forma, la comparación de este tipo de resultados entre este estudio y otros semejantes, debe tener siempre en consideración el tipo de estudio, el diseño del estudio, así como el tipo de colorante utilizado para evaluar la infiltración.

Los métodos para simulación de dientes inmaduros y preparación de modelos de experimentación varían mucho<sup>98</sup>. En este trabajo se utilizó un modelo de simulación de dientes inmaduros semejante al utilizado por Orosco et al. (2010), sin embargo la técnica utilizada para la instrumentación y alargamiento y calibración de los ápices fue un poco diferente.

Los dientes utilizados en este estudio pueden simular la forma y dimensión apical de los dientes inmaduros pero no permiten reproducir o simular perfectamente la composición dentinaria o sus propiedades físicas<sup>97, 98</sup>. Como la dentinogénesis es interrumpida durante el proceso de desarrollo radicular en los dientes inmaduros, las paredes radiculares finas poseen dentina peritubular y intertubular incompleta, con mayor densidad tubular en la dirección del cemento<sup>97, 98</sup>.

En sentido opuesto, cuando los dientes maduros son utilizados para simular dientes inmaduros, existe una menor densidad tubular en las zonas externas de la raíz y mayor dentina intertubular<sup>97, 98</sup>.

Este facto puede representar una limitación para este tipo de estudios pues no se sabe si la capacidad de sellado del MTA y su adaptación marginal a las paredes dentinarias será la misma en estas condiciones simuladas.

Después de la compactación de MTA contra la dentina, ocurre la formación de una camada en la interface dentina-MTA, en la presencia de fosfatos<sup>109</sup>. Esta camada es frecuentemente llamada de hidroxiapatita y tiene un papel importante en la capacidad de sellado del MTA<sup>109</sup>.

De acuerdo con Sarkar et al. (2005) el MTA inicialmente produce un sellado mecánico y posteriormente lleva a la formación de cristales de hidroxiapatita, que después de la reacción con la dentina establece una adhesión química<sup>168</sup>.

Fue descrito que el MTA tiene la capacidad de estimular la deposición mineral en la interface material-dentina y en el interior de los tubulos dentinarios y que eso puede tener un efecto muy positivo en las tasas de suceso del material<sup>110</sup>.

Así siendo, esta ligación química importante que ocurre entre el MTA y la dentina podrá estar comprometida en parte, dadas estas alteraciones provocadas en la estructura dentinaria cuando de la simulación de los dientes inmaduros.

Relativamente a la existencia de una posible correlación entre la capacidad de sellado y la adaptación marginal, se obtuvo un coeficiente de correlación de Spearman de 0,035 ( $p>0,05$ ). Los resultados indican claramente una falta de correlación entre los niveles de filtración apical y las lagunas existentes en la interface entre el material de obturación y la pared del conducto radicular (tabla 7 y 8 y graficos 4, 5, 6 y 7).

Estos resultados son contrarios a los obtenidos en el estudio de Stabholz et al. (1985) que evaluó la capacidad de sellado de 4 materiales y consiguió establecer una correlación con los resultados de la adaptación marginal de estos materiales después análisis por MEB<sup>155</sup>. Sin embargo, este estudio fue conducido en un modelo de simulación de apicectomía, simulando la obturación retrógrada de cavidades preparadas para ese efecto.

En sentido opuesto, los resultados de este estudio fueron semejantes a los encontrados por Abdal y Retief (1982) y por Xavier et al. (2005) que también refirieron una falta de correlación entre la filtración apical y la adaptación marginal de los materiales<sup>155</sup>.

Más recientemente Orosco et al. (2010) a través de un modelo de estudio semejante al utilizado en este trabajo, refirió la misma falta de correlación entre las dos variables. Sin embargo, mientras que en este trabajo se midió la desadaptación máxima del material a las paredes radiculares en el sentido transversal, Orosco et al. midió la adaptación marginal linealmente en sentido longitudinal. Otro aspecto que se debe referir es el hecho de que han utilizado MTA gris mientras que en este estudio se ha utilizado la fórmula blanca del MTA.

Las propiedades físico-químicas y de manipulación, bien como el tamaño de las partículas varían con las diferentes fórmulas del MTA<sup>169</sup>. Ya fue demostrado que el tamaño de las partículas del MTA blanco es menor que el del MTA gris, lo que puede influenciar las propiedades físicas del material<sup>169</sup>.

Considerando la ausencia de una posible correlación entre la capacidad de sellado y la adaptación marginal en este estudio, es importante considerar las limitaciones de la metodología utilizada. Aunque la capacidad de sellado y la adaptación marginal han sido evaluadas en el mismo plano, es imposible afirmar que lo que se ha visto en ambos los microscopios, en aquellos puntos específicos en los planos observados, ocurrió de igual forma en todo el perímetro del conducto.

La ocurrencia de filtración no es un proceso lineal y ocurre de forma distinta en el sistema tridimensional del conducto, bien como la posible existencia de lagunas en la interfase entre el material y la pared radicular no ser un sinónimo de desadaptación del material en todo el perímetro. Una laguna no representa lo que ocurre en toda la barrera apical. De esta forma es muy difícil establecer una correlación entre la adaptación marginal y la capacidad de sellado.

Para la comparación de los resultados de estudios relativamente a la adaptación marginal,

varios factores como el diseño del estudio, plano de sección de la raíz y el método de medición de las lagunas en la interface del material con la pared radicular, deben ser considerados de modo a posibilitar una comparación más justa y real entre los resultados de los variados estudios<sup>169</sup>.

Por fin, también a través de este estudio se puede inferir que un espesor de barrera apical de MTA entre 4 a 5mm es la más indicada para prevenir la filtración, confirmando lo que ya es indicado por la literatura actual<sup>69, 155</sup>.

## CONCLUSIONES

Después del análisis y discusión de los resultados se concluye que:

Los valores de filtración apical del colorante fueron inferiores en ápices de menor calibre. Así, se puede decir que la capacidad de sellado del MTA es mayor en diámetros apicales menores.

A pesar de la relación entre la capacidad de sellado y el diámetro del ápice fue inversamente proporcional, no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos analizados.

En relación a la adaptación marginal del MTA a las paredes radiculares, fue posible determinar que esa adaptación es superior en dientes de calibre apical más pequeño.

Fueron mayores las desadaptaciones máximas observadas, en la interfase entre el material y la pared dentinaria, a medida que aumentaba el diámetro apical, con diferencias estadísticamente significativas entre grupos de estudio. Se comprueba de este modo la

influencia del diámetro apical sobre la adaptación marginal del MTA a las paredes radicales en dientes con ápice abierto.

No existe correlación entre los resultados obtenidos mediante la observación con el microscopio confocal láser y los resultados obtenidos en el microscopio electrónico de barrido.

La técnica de microscopía confocal láser, para la evaluación de la filtración apical de colorante, y la microscopía electrónica de barrido, para la evaluación de la adaptación marginal del MTA, son dos técnicas validas para los fines propuestos.