

Desmineralización de la Dentina Humana Producida por Irrigantes Endodónticos Combinados

Demineralization of Human Dentin Produced by Combination of Endodontic Irrigants

Oliva M. A.¹; López, G. L.²; López, M. E.¹; Salas López, M. M.¹ & de la Casa, M. L.²

OLIVA, M. A.; LÓPEZ, G. L.; LÓPEZ, M. E.; SALAS LÓPEZ, M. M. & DE LA CASA, M. L. Desmineralización de la dentina humana producida por irrigantes endodónticos combinados. *Int. J. Odontostomat.*, 17(1):88-93, 2023.

RESUMEN: El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de soluciones de irrigación endodónticas solas y combinadas sobre iones calcio y fosfato de la dentina radicular *ex vivo*. Se emplearon 56 discos de dentina obtenidos del tercio medio radicular de premolares inferiores unirradiculares extraídos por razones ortodónticas. Los discos se dividieron al azar en 8 grupos (n=7). Grupo I: agua destilada (AD), Grupo II: hipoclorito de sodio (NaClO) 1 %, Grupo III: EDTA 17 %, Grupo IV: ácido maleico (AM) 5 %, Grupo V: ácido acético (AA) 5 %, Grupo VI: EDTA 17 % + NaClO 1 %, Grupo VII: AM 5 % + NaClO 1 %, Grupo VIII: AA 5 % + NaClO 1 %. Los segmentos de dentina permanecieron en contacto a 37° C durante 5 min y 2,5 minutos en cada solución cuando se usaron en forma sucesiva. Se determinó la concentración de iones calcio de las soluciones mediante espectrometría de absorción atómica y la concentración de iones fosfatos mediante colorimetría (Wiener Lab.). Los resultados se expresaron en mg/ml/gr de tejido. Para el análisis estadístico se utilizó ANOVA y Test de Tukey. AA 5 % y EDTA 17 % se comportaron de manera similar utilizados solos durante 5 minutos, NaClO 1 % no mostró diferencias con el AD. AM 5 % eliminó significativamente más calcio y fosfato que todos los grupos. Todas las soluciones desmineralizaron la dentina, pero AM 5 % durante 5 min fue la solución que más afectó el componente inorgánico de la dentina.

PALABRAS CLAVE: irrigación endodóntica, dentina, desmineralización.

INTRODUCCION

La dentina que conforma las paredes del conducto radicular está constituida básicamente por material orgánico e inorgánico. Las fibras colágenas tipo I representan el material orgánico más abundante desempeñando un papel fundamental en la distribución de las fuerzas externas recibidas por el diente. La composición inorgánica de la dentina incluye cristales de hidroxiapatita y otras sales de fosfatos de calcio amorfo (Rath *et al.*, 2020).

La irrigación es considerada el método más adecuado para remover los restos de tejido y el barro dentinario producidos durante la preparación del conducto (Yang *et al.*, 2006). La solución de hipoclorito de sodio, comúnmente utilizado en Endodoncia como irrigante, por su poder bactericida y capacidad para di-

solver materia orgánica y tejido necrótico, suele combinarse con agentes quelantes como el EDTA para remover los componentes inorgánicos del barro dentinario generado durante la instrumentación (Zehnder *et al.*, 2002). Si bien estas soluciones son importantes para limpiar y desinfectar el conducto radicular, también son capaces de alterar las propiedades químicas y estructurales de la dentina modificando la proporción de minerales de calcio y fosfato (Lima Nogueira *et al.*, 2018). Estudios demostraron alteraciones de la microdureza (López *et al.*, 2015), resistencia a la flexión, módulo de elasticidad (Gu *et al.*, 2017), permeabilidad y solubilidad (Uzunoglu *et al.*, 2012). Así mismo la modificación del radio de Ca²⁺/PO₄³⁻ podría modificar la habilidad de sellado y adhesión de los cementos utilizados para la obturación posterior del conducto (Poggio *et al.*, 2014).

¹ Cátedra de Química Biológica, Universidad Nacional de Tucumán.

² Cátedra de Endodoncia. Facultad de Odontología. Universidad Nacional de Tucumán.

Este Trabajo fue parcialmente subvencionado por SCAIT, Código de Proyecto: 26J614. (Secretaría de Ciencia, Arte e Innovación Tecnológica), UNT y Facultad de Odontología, UNT, Argentina.

El EDTA, a pH neutro, reacciona con los iones de calcio en la dentina y forma quelatos de calcio solubles. Sin embargo, si accidentalmente alcanza los tejidos periapicales, puede causar apoptosis, necrosis, inflamación y efectos citotóxicos (Privatto *et al.*, 2020). Otros estudios demostraron que provoca erosión de la dentina incrementando el riesgo de fracturas radiculares verticales (Kfir *et al.*, 2020).

Para minimizar estos efectos surgieron otros irrigantes naturales con resultados prometedores similares a EDTA (Abdelghany *et al.*, 2020), como ser vinagre de manzana y ácido maleico (AM). El vinagre de manzana está compuesto por ácido acético (AA) 5 % y ácido málico al 0,35 % (Caligiani *et al.*, 2007), tiene buena relación costo-eficacia y es una sustancia biocompatible (Candeiro *et al.*, 2011). Su potencial antimicrobiano ha sido demostrado (Estrela *et al.*, 2007) pero poco se ha publicado acerca de su capacidad de limpieza (Rodrigues *et al.*, 2013).

El AM es un ácido orgánico suave que remueve el barro dentinario de la superficie de los dientes (Ballal *et al.*, 2011) y sería menos citotóxico que EDTA (Giardino *et al.*, 2020). Así mismo se demostró su eficacia para eliminar el barro dentinario de la región apical sin afectar considerablemente la microdureza de la dentina (Gupta & Singh, 2018).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de soluciones de irrigación endodónticas, usadas solas y combinadas, sobre los iones Ca^{2+} y PO_4^{3-} de la dentina radicular *ex vivo*.

MATERIAL Y METODO

Se seleccionaron al azar 28 premolares inferiores sanos, unirradiculares, recientemente extraídos por razones ortodóncicas, previo consentimiento informado, con similitudes de morfología y tamaño. Quedaron excluidos aquellos premolares con caries, lesiones de abfracción, enfermedad periodontal, dientes con más de un conducto o cuyos conductos sean curvos. Los mismos fueron conservados en solución fisiológica a 4°C hasta su utilización.

Se removió el cemento de los dientes con curetas Gracey (HuFriedy, North Carolina, USA). Las raíces se seccionaron mediante cortes transversales utilizando cortadora de precisión (Miniton, Struers, Rodovre, Dinamarca) (Fig. 1). Para el corte de las mis-

mas se utilizó disco diamantado de 76 mm de diámetro y 0,15 mm de espesor (UKAM, Los Ángeles, USA). Una vez cortado y descartado el tercio apical, se seccionó el tercio medio en 2 segmentos de aproximadamente 3 mm de espesor (Fig. 2). Los mismos se midieron con calibre digital (Mitutoyo, São Pablo, Brasil). Cada segmento se pesó usando balanza analítica de precisión (Acculab, Buenos Aires, Argentina). Inmediatamente después se almacenaron en tubos Eppendorf en solución fisiológica a 4°C hasta su utilización.

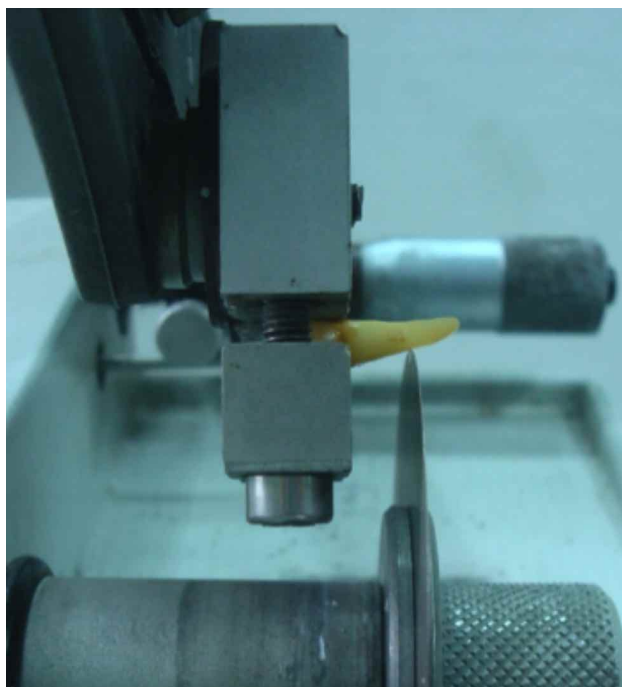


Fig. 1. Corte transversal de raíz de premolar inferior con cortadora de precisión.



Fig. 2. Discos de dentina obtenidos del tercio medio radicular.

Los 56 discos de dentina se dividieron al azar en 8 grupos ($n=7$) de acuerdo a la solución de irrigación a analizar: Grupo I: agua destilada (AD), Grupo II: hipoclorito de sodio ($NaClO$) 1 %, Grupo III: EDTA 17 %, Grupo IV: ácido maleico (AM) 5 %, Grupo V: ácido acético (AA) 5 %, Grupo VI: EDTA 17 % + $NaClO$ 1 %, Grupo VII: AM 5 % + $NaClO$ 1 %, Grupo VIII: AA 5 % + $NaClO$ 1 %. Los discos permanecieron en con-

tacto con 1 ml de solución por 5 minutos a 37°C y durante 2,5 minutos en cada solución cuando se usaron en forma sucesiva.

Se determinó la concentración de iones calcio de las soluciones mediante espectrometría de absorción atómica (Perkin Elmer AAnalyst 100, Massachusetts, EEUU) y la concentración de iones fosfato mediante fotocolorimetría (Wiener lab).

Los resultados se expresaron en mg/ml/gr de tejido. Para el análisis estadístico se utilizó ANOVA y Test de Tukey. El nivel de significancia fue 0,05 para el calcio y 0,01 para el fosfato.

Tabla I. Iones calcio en las soluciones solas y combinadas en contacto con segmentos de dentina radicular humana. Las letras indican categorías, letras diferentes expresan diferencias estadísticas.

SOLUCIÓN	TIEMPO (min)	CALCIO (mg/ml/g de dentina) (x±DS)
AD	5	0,22±0,12 ^a
NaClO 1 %	5	0,48±0,04 ^a
EDTA 17 %	5	6,51±0,91 ^{d,e}
AM 5 %	5	25,24±3,73 ^g
AA 5 %	5	4,22±2,34 ^{c,d}
EDTA 17 %	2,5	1,93±1,01 ^{a,b,c}
NaClO 1 % después de EDTA 17 %	2,5	0,71±0,37 ^a
EDTA 17 % + NaClO 1 %	2,5+2,5	2,65±1,37 ^{a,b,c}
AM 5 %	2,5	9,17±4,59 ^{e,f}
NaClO 1 % después de AM 5 %	2,5	0,81±0,44 ^a
AM 5 % + NaClO 1 %	2,5+2,5	9,99±4,99 ^f
AA 5 %	2,5	1,68±0,59 ^{a,b,c}
NaClO 1 % después de AA 5 %	2,5	0,23±0,10 ^a
AA 5 % + NaClO 1 %	2,5+2,5	1,91±1,11 ^{a,b,c}

Tabla II. Iones fosfato en las soluciones solas y combinadas luego del contacto con segmentos de dentina radicular humana. Las letras indican categorías, letras diferentes expresan diferencias estadísticas.

SOLUCIÓN	TIEMPO (min)	FOSFATOS (mg/ml/g de dentina) (x±DS)
AD	5	0 ^a
NaClO 1 %	5	0 ^a
EDTA 17 %	5	4,49±1,34 ^{c,d,e}
AM 5 %	5	12,51±2,23 [†]
AA 5 %	5	2,84±0,5 ^{a,b,c,d}
EDTA 17 %	2,5	2,3±1,27 ^{a,b,c}
NaClO 1 % después de EDTA 17 %	2,5	0,53±0,42 ^a
EDTA 17 % + NaClO 1 %	2,5+2,5	2,83±1,63 ^{a,b,c,d}
AM 5 %	2,5	5,39±0,68 ^{d,e}
NaClO 1 % después de AM 5 %	2,5	0,42±0,16 ^a
AM 5 % + NaClO 1 %	2,5+2,5	5,81±0,79 ^d
AA 5 %	2,5	1,15±0,09 ^{a,b}
NaClO 1 % después de AA 5 %	2,5	0,075±0,05 ^a
AA 5 % + NaClO 1 %	2,5+2,5	1,22±0,08 ^{a,b}

RESULTADOS

En la Tabla I se observan los promedios de las concentraciones de calcio en las soluciones utilizadas solas, durante 5 minutos y combinadas con NaClO 1 %.

El NaClO 1 % utilizado sólo durante 5 minutos o después del uso de los quelantes (2,5 minutos), no presentó diferencias significativas con AD ($p \geq 0,05$).

Al evaluar en los distintos tiempos de exposición AA 5 % eliminó similares concentraciones de calcio en ambos tiempos, mientras que EDTA 17 % y AM 5 % eliminaron significativamente más calcio a los 5 minutos. Así mismo se evidenciaron diferencias significativas entre estos últimos en ambos tiempos ($p \leq 0,05$), siendo AM la solución que más iones calcio eliminó.

AM 5 % durante 5 min eliminó significativamente iones calcio con respecto a todos los grupos. La descalcificación fue mayor a 5 minutos que a 2,5 minutos.

Cuando se combinaron las soluciones con NaClO 1 % se observa en el caso de AA 5 % y EDTA 17 % que la cantidad de calcio se redujo, pero sin evidenciarse diferencias entre ambos grupos ($p \geq 0,05$).

AM 5 % combinado con NaClO fue capaz de eliminar significativamente más calcio que las combinaciones de EDTA 17 % y AA 5 % con NaClO 1 %.

Al evaluar el efecto de las soluciones sobre los iones fosfatos (Tabla II) se manifiesta que NaClO 1 % utilizado durante 5 minutos y durante 2,5 minutos posteriores al contacto con las soluciones quelantes, se comportó de manera similar al del AD ($p \geq 0,01$).

AM eliminó significativamente más fosfato que el resto de las soluciones, siendo esta acción dependiente del tiempo de exposición.

AA 5 % y EDTA 17 % durante 5 minutos eliminaron similares concentraciones de fosfatos ($p \geq 0,01$).

Al evaluar el efecto sobre fosfatos en las combinaciones con NaClO 1 % se observó que las soluciones de EDTA 17 % Y AA 1 % redujeron las concentraciones de este ión con respecto a las soluciones utilizadas solas sin mostrar diferencias significativas. En el caso de AM 5 % combinado con NaClO 1 % también ocurrió este mismo efecto, sin embargo, con diferencias estadísticas ($p \leq 0,01$).

DISCUSIÓN

En este trabajo se evaluó la eliminación de calcio y fosfatos de la dentina humana luego del contacto con soluciones de irrigación utilizadas solas y combinadas.

Diferentes métodos han sido utilizados para evaluar la desmineralización de la dentina radicular como ser espectrometría de absorción atómica, fotometría de flama, espectroscopía de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES) (Sayin *et al.*, 2009). En este estudio se cuantificaron los iones calcio mediante espectrometría de absorción atómica.

Según Tartari *et al.* (2013), los efectos de la descalcificación dependerían del irrigante utilizado, del tiempo de aplicación, del pH de la solución y de la concentración de la misma.

El NaClO es un potente disolvente de materia orgánica. En presencia de agua se disocia al catión sódico (Na^+) y al anión hipoclorito (ClO^-), que está en equilibrio con su forma protonada (HClO). Ambos, el ácido hipocloroso y el anión hipoclorito son fuertes agentes oxidantes. Reaccionan con proteínas, aminoácidos, péptidos y lípidos (Gotabek *et al.*, 2019). Por su efecto disolvente sobre tejidos necróticos, el NaClO es la solución de irrigación más utilizada en Endodoncia. Sin embargo, la concentración adecuada es un tema muy discutido. Las altas concentraciones de NaClO tienen mejores efectos de disolución de tejido pero son más tóxicas (Topbas & Adiguzel, 2017). En este estudio se utilizó NaClO al 1 % durante

5 min y durante 2,5 min luego del contacto con las soluciones quelantes. Se pudo observar que, en todos los casos, tanto en las concentraciones de calcio como de fósforo, el NaClO 1 % no mostró diferencias significativas con respecto al control. Ari & Erdemir (2005) evidenciaron resultados similares. Sin embargo, en nuestro estudio sí hubo extracción de calcio por parte de esta solución. Esto puede deberse a la acidificación promovida por el anión ClO^- que contribuye también a la pérdida de la estructura mineral de la dentina a pesar de la naturaleza alcalina de esta solución (Gu *et al.*, 2017). A diferencia de nuestro trabajo, Küçükkaya *et al.* (2018) demostraron una disminución significativa del radio de Ca/P luego del uso del hipoclorito de sodio, pero ellos lo utilizaron en una concentración del 5,25 % durante 1 hora de exposición. Estos resultados coinciden con los de Zhang *et al.* (2010), quienes afirman que los efectos nocivos atribuidos al uso de NaClO en la dentina son dependientes de la concentración y del tiempo de exposición.

EDTA es el agente quelante más comúnmente utilizado en Endodoncia (Zehnder, 2006). La quelación es un proceso físico-químico que genera la captación de iones multivalentes positivos. En el caso de la dentina radicular, el agente reacciona con los iones de calcio de los cristales de hidroxiapatita ocasionando cambios en el radio Ca/P alterando la microestructura (Nygaard-Ostby, 1957). En este estudio se pudo observar diferencias significativas de EDTA 17 % con el agua destilada tanto en el caso del calcio como del fosfato. Asimismo, se demostró que la pérdida de calcio fue significativamente mayor a los 5 minutos que a los 2,5 minutos lo que concuerda con autores que indican que la desmineralización incrementa con el tiempo de aplicación (Thangaraj *et al.*, 2009). Al ser combinado con el NaClO 1 % no se encontró diferencias con el control, esto podría deberse al tiempo de contacto que fue menor que al ser utilizado sólo. Al mismo tiempo, existen investigaciones que demostraron que el uso combinado de EDTA 17 % con NaClO incrementó significativamente la pérdida de calcio, esta diferencia con nuestros resultados puede deberse a que ellos utilizaron el mismo tiempo de inmersión al ser combinados que cuando usaron los irrigantes solos, duplicando así el tiempo de exposición total. Además, utilizaron el hipoclorito de sodio a en una concentración del 2,5 % (Sayin *et al.*, 2007; Mishra *et al.*, 2012).

Por su parte, el vinagre de manzana es una combinación de los ácidos acético, cítrico, fórmico, lácti-

co, succinato y tartárico con pequeñas cantidades de alcohol resultantes del proceso de fermentación. Los ácidos presentes en mayor concentración están representados por los ácidos acético (5 %) y málico (0,35 %) (Caligiani *et al.*, 2007). Estudios previos demostraron un efecto antimicrobiano y capacidad de eliminar el barro dentinario por acción del vinagre de manzana (Estrela *et al.*, 2007). En este trabajo se utilizó ácido acético 5 %, uno de los componentes del vinagre de manzana. Nuestros resultados manifiestan diferencias significativas del ácido acético con respecto al control al evaluar las concentraciones de calcio. No ocurre lo mismo en el caso del fosfato. Al compararlo con EDTA 17 % su comportamiento fue similar en cuanto al calcio, lo que difiere de estudios anteriores que demostraron que la eliminación de calcio fue más efectiva con EDTA 17 % (Kirchhoff *et al.*, 2014).

Al evaluar el comportamiento del ácido maleico se puede observar que eliminó significativamente más calcio que todas las soluciones y además ese efecto fue dependiente del tiempo. Se demostró que redujo más calcio que EDTA 17 %, lo que coincide con los resultados de estudios previos (Ballal *et al.*, 2011). Esto puede atribuirse al pH ácido de esta solución (pH1,5) en comparación con el de EDTA (pH7).

En esta investigación, se utilizó el tiempo de 5 minutos para el contacto con las soluciones de irrigación, ya que se afirma que es un tiempo realista con respecto a la aplicación clínica de las soluciones quelantes (Wahyuniwati *et al.*, 2016). A pesar de que el NaClO generalmente se usa durante el transcurso de todo el tratamiento endodóntico se decidió unificar los tiempos para todas las soluciones.

CONCLUSIÓN

Todas las soluciones desmineralizaron la dentina radicular humana, sin embargo, NaClO 1 % se comportó de manera similar al control en todos los casos.

La descalcificación producida por AA 5 % fue independiente del tiempo de exposición, mientras que la producida por EDTA 17 % y AM 5 % fue dependiente del mismo.

De las soluciones quelantes analizadas, AM 5 % fue la que más iones calcio y fosfatos eliminó de la dentina radicular humana a 5 minutos.

OLIVA, M. A.; LÓPEZ, G. L.; LÓPEZ, M. E.; SALAS LÓPEZ, M. M. & DE LA CASA, M. L. Demineralization of human dentin produced by combination of endodontic irrigants. *Int. J. Odontostomat.*, 17(1):88-93, 2023.

ABSTRACT: The aim of the present study was to evaluate ex vivo irrigating solutions effect under calcium and phosphates dentin ions, using them alone and combined. In this study 56 dentin discs were used. They were obtained from middle third of mandibular single-root premolars extracted for orthodontics reasons. Discs were randomly divided into 8 groups (n:7). Group I: Distilled water (DW), Group II: 1 % sodium hypochlorite (NaOCl), Group III: 17 % EDTA, Group IV: 5 % maleic acid (MA), Group V: 5 % acetic acid (AA), Group VI: 17 % EDTA + 1 % NaOCl, Group VII: 5 % MA + 1 % NaOCl, Group VIII: 5 % AA + 1 % NaOCl. Dentin segments were kept in contact with irrigating solutions at 37°C for 5 minutes, when used alone, or for 2.5 minutes when used combined. After that, calcium ions (using absorption atomic spectrometry) and phosphorus ions (by colorimetry Wiener Lab.) were determined. Results were expressed in mg/ml/g tissue. Statistical analysis was performed by ANOVA and Tukey test. 5 % AA and 17 % EDTA eliminated similar concentrations of calcium and phosphates ions from dentin at 5 minutes exposure time, while 1 % NaOCl did not present statistical differences with control. 5 % MA eliminated significantly more calcium and phosphates ions than the rest of analyzed groups. Every tested solutions demineralized human dentin, but 5 % MA used for 5 minutes did it the most.

KEY WORDS: endodontic irrigation- dentin-desmineralization

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdelghany, M. E.; Kamel, W. H. & Bastawy, H. A. Efficacy of apple vinegar as final irrigating solution in removing smear layer using XP-Endo finisher file. *Azhar Dent. J. Girls*, 7(1): 95-103, 2020.
- Ari, H & Erdemir, A. Effects of endodontic irrigation solutions on mineral content of root canal dentin using ICP-AES technique. *J. Endod.*, 31(3):187-9, 2005.
- Ballal, N. V.; Mala, K. & Bhat, K. S. Evaluation of decalcifying effect of maleic acid and EDTA on root canal dentin using energy dispersive spectrometer. *Oral Surg. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, 112(2):e78-84, 2011.
- Caligiani, A.; Acquotti, D.; Palla, G. & Bocchi, V. Identification and quantification of the main organic components of vinegars by high resolution 1H NMR spectroscopy. *Anal. Chim. Acta*, 585(1):110-9, 2007.
- Candeiro, G. T.; Matos, I. B.; Costa, C. F.; Fonteles, C. S. & Vale, M. S. A comparative scanning electron microscopy evaluation of smear layer removal with apple vinegar and sodium hypochlorite associated with EDTA. *J. Appl. Oral Sci.*, 19(6):639-43, 2011.
- Estrela, C.; Lopes, H. P.; Elias, C. N.; Leles, C. R. & Pécora, J. D. Limpeza da superfície do canal radicular pelo vinagre de maçã, hipoclorito de sódio, clorexidina e EDTA. *Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.*, 61:117-22, 2007.

- Giardino, L.; Bidossi, A.; Del Fabbro, M.; Savadori, P.; Maddalone, M.; Ferrari, L.; Ballal, N. V.; Das, S. & Rao, B. S. Antimicrobial activity, toxicity and accumulated hard-tissue debris (AHTD) removal efficacy of several chelating agents. *Int. Endod. J.*, 53(8):1093-110, 2020.
- Gotabek, H.; Borys, K. M.; Kohli, M. R.; Sawczuk, K. B. & Struz'ycka, I. Chemical aspect of sodium hypochlorite activation in obtaining favorable outcomes of endodontic treatment: An *in-vitro* study. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 28(10):1311-9, 2019.
- Gu, L. S., Huang, X. Q.; Griffin, B.; Bergeron, B. R.; Pashley, D. H.; Niu, L. N. & Tay, F. R. Primum non nocere - The effects of sodium hypochlorite on dentin as used in endodontics. *Acta Biomater.* 61:144-56, 2017.
- Gupta, N. & Singh, N. Effect of maleic acid, ethylenediaminetetraacetic acid, MTAD on smear layer removal and dentin microhardness. *J. Dent. Indones.*, 25(2):91-8, 2018.
- Kfir, A.; Goldenberg, C.; Metzger, Z.; Hülsmann, M & Baxter, S. Cleanliness and erosion of root canal walls after irrigation with a new HEDP-based solution vs. traditional sodium hypochlorite followed by EDTA. A scanning electron microscope study. *Clin. Oral Investig.*, 24(10):3699-706, 2020.
- Kirchhoff, A. L.; Viapiana, R.; Miranda, C. E. S.; Sousa Neto, M. D. & Cruz Filho, A. M. Comparison of the apple vinegar with other chelating solutions on smear layer and calcium ions removal from the root canal. *Indian J. Dent. Res.* 25(3):370-4, 2014.
- Küçükaya, E. S., Uzunog'lu, E., Sezer, B., Yılmaz, Z. & Boyacı, I. H. Mineral content analysis of root canal dentin using laser-induced breakdown spectroscopy. *Restor. Dent. Endod.*, 43(1):e11, 2018.
- Lima Nogueira, B. M.; da Costa Pereira, T. A.; Pedrinha, V. F. & de Almeida Rodrigues, P. Effects of different irrigation solutions and protocols on mineral content and ultrastructure of root canal dentine. *Iran Endod. J.*, 13(2):209-15, 2018.
- López, G. L.; de la Casa, M. L.; Sáez, M. M. & López, M. E. Acción de soluciones de Irrigación endodónticas sobre la microdureza de la Dentina. *Rev. FOUNT*, 34:12-7, 2015.
- Mishra, L.; Kumar, M. & Subbar, C. V. Calcium loss from root canal dentin following EDTA and Tetracycline HCl Treatment with or without subsequent NaOCl irrigation and evaluation of microhardness of dentine. *Int. J. Adv. Res. Technol.*, 1(2):1-6, 2012.
- Nygaard-Ostby, B. Chelation in root canal therapy: ethylenediaminetetraacetic acid for cleansing and widening of root canals. *Odontol. Tidskrift*, 65:3-11, 1957.
- Poggio, C.; Dagna, A.; Colombo, M.; Scribante, A. & Chiesa, M. Decalcifying efficacy of different irrigating solutions: effect of cetrimide addition. *Braz. Oral Res.*, 28(1):1-6, 2014.
- Privatto, K.; Miranda Pedro, F. L.; Aguirre Guedes, O.; Fernandes da Silva, A.; Piva, E.; Machado Pereira, T.; de Oliveira da Rosa, W. L. & Borges, A. H. Cytotoxicity of chelating agents used in endodontics and their influence on MMPs of cell membranes. *Braz. Dent. J.*, 31(1):32-6, 2020.
- Rath, P. P.; Yiu, C. K. Y.; Matinlin, J. P.; Kishen, A. & Neelakantan, P. The effect of root canal irrigants on dentin: a focused review. *Restor. Dent. Endod.*, 45(3):e39, 2020.
- Rodrigues, C. T.; Bernardineli, N.; Duarte, M. A. H.; Bramante, C. M. & Andrade, F. B. Evaluation of EDTA, apple vinegar and smear clear with and without ultrasonic activation on smear layer removal in different root canal levels. *Dent Press Endod.*, 3(1):43-8, 2013.
- Sayin, T. C.; Cehreli, Z. C.; Deniz, D.; Akcay, A.; Tuncel, B.; Dagli, F.; Gozukara, H. & Kalayci, S. Time-dependent decalcifying effects of endodontic irrigants with antibacterial properties. *J. Endod.*, 35(2):280-3, 2009.
- Sayin, T. C.; Serper, A.; Cehreli, Z. C. & Kalayci, S. Calcium loss from root canal dentin following EDTA, EGTA, EDTAC, and tetracycline-HCl treatment with or without subsequent NaOCl irrigation. *J. Endod.*, 33(5):581-4, 2007.
- Tartari, T.; Souza, P. A. R. S.; Almeida, B. V. N.; Silva Júnior, J. O. C.; Pessoa, O. F. & Souza Junior, M. H. S. A new weak chelator in endodontics: effects of different irrigation regimens with etidronate on root dentin microhardness. *Int. J. Dent.*, 2013:743018, 2013.
- Thangaraj, D. N.; Ballal, V. & Acharya, S. R. Determination of calcium loss and its effect on microhardness of root canal dentin following treatment with 17 % ethylenediaminetetraacetic acid solution at different time intervals - An *in vitro* study. *Endodontology*, 21(1):9-15, 2009.
- Tobbas, C. & Adiguzel, O. Endodontic irrigation solutions: a review. *Int. Dent. Res.*, 7(3):54-61, 2017.
- Uzunoglu, E.; Aktemir, S.; Uyanik, M. O.; Durmaz, V. & Nagas, E. Effect of ethylenediaminetetraacetic acid on root fracture with respect to concentration at different time exposures. *J. Endod.*, 38(8):1110-3, 2012.
- Wahyuniwati, W.; Nugroho, J. J.; Trilaksana, A. C.; Rovani, C. A.; Natsir, N. & Mattulada, I. K. Microhardness characteristics values of root canal dentin after application with different types of EDTA. *J. Dentomaxillofac. Sci.*, 1(1):49-52, 2016.
- Yang, S. E.; Cha, J. H.; Kim, E. S.; Kum, K. Y.; Lee, C. Y. & Jung, I. Y. Effect of smear layer and chlorhexidine treatment on the adhesion of *Enterococcus faecalis* to bovine dentin. *J. Endod.*, 32(7):663-7, 2006.
- Zehnder, M. Root canals irrigants. *J. Endod.*, 32(5):389-98, 2006.
- Zehnder, M.; Kosicki, D.; Luder, H.; Sener, B. & Waltimo, T. Tissue dissolving capacity and antimicrobial effect of buffer and unbuffered hypochlorite solutions. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, 94(6):756-62, 2002.
- Zhang, K.; Kim, Y. K.; Cadenaro, M.; Bryan, T. E.; Sidow, S. J.; Loushine, R. J.; Ling, J. Q.; Pashley, D. H. & Tay, F. R. Effects of different exposure times and concentrations of sodium hypochlorite/ethylenediaminetetraacetic acid on the structural integrity of mineralized dentin. *J. Endod.*, 36(1):105-9, 2010.

Corresponding author:

Oliva Maria Andrea
Department of Biochemistry
Faculty of Dentistry
National University of Tucumán
Av. Benjamín Aráoz 800
C.P: 4000
Tucumán
ARGENTINA

E-mail: andyoliva1985@gmail.com