

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO**

**Débora Pereira Diniz Correia**

**ANÁLISE DO ÁCIDO GLICÓLICO COM  
SOLUÇÕES PARA REMOÇÃO DA *SMEAR*  
*LAYER* DE CANAIS RADICULARES**

Passo Fundo

2018

**Débora Pereira Diniz Correia**

**ANÁLISE DO ÁCIDO GLICÓLICO COM  
SOLUÇÕES PARA REMOÇÃO DA *SMEAR*  
*LAYER* DE CANAIS RADICULARES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da UPF, para obtenção do título de Mestre em Odontologia – Área de Concentração em Clínica Odontológica, sob orientação do prof. Dr. Doglas Cecchin.

Passo Fundo

2018

Folha reservada para  
Ata de aprovação da Banca Examinadora

Observação:  
Mantenha esta página no seu arquivo, imprimindo-a.  
Após, faça a substituição pela Ata de aprovação fornecida pela  
Secretaria para manter a correta numeração do seu trabalho.

Folha reservada para  
Ficha catalográfica

Observação:

Mantenha esta página no seu arquivo, imprimindo-a.  
Após, faça a substituição pela Ficha Catalográfica fornecida pela  
Secretaria para manter a correta numeração do seu trabalho.

## **BIOGRAFIA DO AUTOR**

Débora Pereira Diniz Correia nascida em primeiro de abril de 1990 em São Bernardo do Campo, São Paulo. Graduada em Odontologia pela Universidade de Passo Fundo, 27/07/2013. Especialista em Odontopediatria pela São Leopoldo Mandic/Campinas – 25/08/2015, Capacitada em Sedação consciente com oxido nitroso pela Abasco – 30/06/2017. Trabalho de Conclusão de Curso titulado em: Efeito de uma solução experimental como agente desproteinizante na resistência de união de pinos de fibra de vidro reembasados com resina composta à dentina radicular, defendido em 10/06/2013 na Universidade de Passo Fundo / Faculdade de Odontologia. Atualmente é Odontopediatra na Clínica Odontológica Excelência Oral e Professora da Especialização em Odontopediatria do CEOM.

## **OFERECIMENTOS E AGRADECIMENTOS**

Ao meu marido, Ramiro, companheiro de todas as horas, exemplo de pessoa e profissional, pelo incondicional apoio, compreensão e carinho.

Aos meus pais, Cristina e Djair, pelo exemplo de dignidade e perseverança, pelo apoio incondicional em todos os momentos de minha vida.

Ao meu irmão, Guilherme, que mesmo longe em alguns momentos, nunca mediu esforços em me ajudar a apoiar.

A família do meu marido, que sempre me incentivaram em meus estudos.

As minhas amigas de ensino médio e de especialização, que até hoje dividem momentos importantes da minha vida, obrigada pelo incentivo de sempre.

A toda minha família.

Ao meu orientador, Professor Doutor Douglas Cecchin, pelos ensinamentos, pelo exemplo de pessoa e profissional. Por confiar na minha capacidade, pela amizade e, sobretudo, pela sua paciência em todos os momentos.

Aos professores do mestrado pelo ensinamento e incentivo.

Aos colegas de mestrado, pelos momentos e por dividirem comigo esta etapa tão importante.

À Universidade de Passo Fundo, que esteve presente em mais uma etapa de minha formação e por me oportunizar uma pós-graduação gratuita e de excelência.

Aos funcionários da Universidade de Passo Fundo, que colaboraram na execução da pesquisa.

## SUMÁRIO

BIOGRAFIA DO AUTOR .....	5
OFERECIMENTOS E AGRADECIMENTOS .....	6
SUMÁRIO .....	8
LISTA DE TABELAS.....	9
LISTA DE FIGURAS .....	10
LISTA DE ABREVIATURAS .....	12
RESUMO.....	13
1. INTRODUÇÃO .....	17
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	19
3. PROPOSIÇÃO .....	28
4. MATERIAIS E MÉTODOS .....	29
5. RESULTADOS .....	41
6. DISCUSSÃO .....	48
7. CONCLUSÕES.....	54
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	55
REFERÊNCIAS .....	56
APÊNDICES.....	68
ARTIGO A SER SUBMETIDO .....	72



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores de média de microdureza e desvio-padrão para os grupos experimentais.....	41
Tabela 2. Valores de mediana (Md), primeiro (Q1) e terceiro quartil (Q3) dos escores de remoção de <i>smear layer</i> para os grupos experimentais..	43
Tabela 3. Análise estatística sobre o Grau de Erosão. ....	45

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Esquema do protocolo para teste de microdureza. (A) Remoção das coroas. (B) Secção longitudinal originando dois segmentos. (C) Inclusão resina acrílica com a dentina exposta. (D) Aplicação das soluções sobre a superfície dentinária. .... 31
- Figura 2. Esquema do protocolo indicando o local de indentação. (A) Primeira indentação a 1.000 mm da entrada do canal radicular. (B) Segunda indentação a 200 mm da primeira indentação. (C) Terceira indentação a 200 mm da segunda indentação. .... 32
- Figura 3. Esquema representando o preparo das amostras. (A) Remoção das coroas. (B) Confecção de sulcos longitudinais. (C) Determinação do mprimento de trabalho com lima tipo K calibre 10. .... 33
- Figura 4. Esquema representando o preparo das amostras na etapa de instrumentação rotatória. (A) Lima X1, seguida por irrigação com 2 mL de NaOCl 2,5%. (B) Lima X2, seguida por irrigação com 2 mL de NaOCl 2,5%. (C) Lima X3, seguida por irrigação com 2 mL de NaOCl 2,5%. .... 34
- Figura 5. Esquema ilustrando a divisão dos grupos. (A) G1 controle negativo, soro fisiológico. (B) G2, EDTA 17%. (C) G3, AG 17% com pH 1,2. (D) G4, AG 17% com pH 5. .... 35
- Figura 6. Esquema ilustrativo do prepara das amostras para análise em MEV. (A) Divisão da amostra com lâmina de micrótomo e martelo odontológico. (B) As amostras divididas em duas metades. .... 36
- Figura 7. Esquema ilustrativo das áreas onde foram realizadas as análises da camada smear layer. (A) Terço coronal (10-12 mm do ápice). (B) Terço médio (6-7 mm do ápice). (C) Terço apical (1-2 mm de ápice). . 37
- Figura 8. Scores para determinar a presença ou ausência da camada smear layer (A) Score 1: sem *smear layer*, túbulos dentinários abertos. (B) Score 2: pequena quantidade de *smear layer*, alguns túbulos dentinários abertos. (C) Score 3: *smear layer* homogênea cobrindo a

parede do canal radicular, apenas alguns túbulos dentinários abertos. (D) Score 4: parede completa do canal radicular coberta por <i>smear layer</i> homogênea, sem túbulo dentinário aberto. (E) Score 5: <i>smear layer</i> não-homogênea pesada cobrindo a totalidade dos túbulos dentários. ....	38
Figura 9. Scores para determinar a presença ou ausência de erosão dentinária. (A) Score 0: <i>smear layer</i> cobrindo quase toda a superfície dentinária, com poucos ou nenhum túbulo aberto; (B) Score 1: sem erosão: todos os túbulos visivelmente normais em aparência e tamanho; (C) Score 2: erosão moderada: a dentina peritubular corroída; (D) Score 3: erosão severa: a dentina intertubular destruída e os túbulos conectados entre si. ....	39
Figura 10. Erosão causada pelas soluções testadas. (A) Erosão Score 2, com dentina peritubular destruída, causada pelo EDTA. (B) Estrutura tratada com AG pH 1,2, apresentando algumas regiões já com erosão Score 3, túbulos conectados entre si. (C) Dentina intertubular já destruída, Score 3 correspondente ao grupo em que foi testado AG pH 5,0. ....	39
Figura 11. Porcentagem de remoção de <i>smear layer</i> entre os fatores de teste no terceiro coronal, terço médio e terço apical do sistema de canal radicular. ....	42
Figura 12. Imagens microscópicas eletrônicas de varredura dos grupos e os terços radiculares estudados. ....	44
Figura 13. Análise estatística sobre o Grau de Erosão. ....	45
Figura 14. Percentagem atômica (at.%) de cálcio (Ca), fósforo (P), sódio (Na), cloro (Cl), magnésio (Mg). (A) Grupo 1 - 1.Soro. (B) Grupo 2 - NaOCl + EDTA. (C) Grupo 3 - NaOCl+ AG pH 1,2. (D) Grupo 4 - NaOCl+ AG pH 5. ....	47

## LISTA DE ABREVIATURAS

% - Porcentagem  
µm - Micrômetros  
AF – Ácido Fosfórico  
AG - Ácido Glicólico  
AHAs - Alfa Hidroxiácidos  
CEP - Comitê de Ética em pesquisa  
CHX – Clorexidina  
CMH - Cochran-Mantel-Haenszel  
EDS - Dispersão de Energia X-Ray Spectroscopy  
EDTA - Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético  
EDTAC - Ácido Etilenodiamina Tetra-Acético Cetavlon  
h – Hora  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - Peróxido de Hidrogênio  
HV - Dureza Vickers  
MEV – Microscópio Eletrônico de Varredura  
ml – Mililitros  
mm – Milímetros  
MTAD - 4 Metil-1,24 Triazoline-3,5-Dione  
NaOCl - Hipoclorito de sódio  
pH - Potencial Hidrogênico  
s – Segundos

## RESUMO

Considerando que durante o tratamento endodôntico a *smear layer* deva ser removida e o EDTA possua algumas características desfavoráveis, o objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade de remoção da *smear layer* e os efeitos do Ácido Glicólico (AG) sob a superfície dentinária radicular. Vinte dentes unirradicular foram seccionados longitudinalmente ao meio e os quarenta segmentos foram divididos aleatoriamente em quatro grupos da seguinte forma: controle negativo, soro fisiológico; EDTA 17%; AG 17% com pH 1,2; e, AG 17% com pH 5. Dois mL de 2,5% NaOCl foi aplicado inicialmente em todas as amostras durante 1 minuto, seguido por 5 ml de irrigação de soro fisiológico, logo após 2 ml da solução testada agiu durante 1 minuto e por fim 5 ml de irrigação de soro fisiológico afim de avaliar a microdureza dentinária. Outros quarenta dentes humanos unirradiculares foram submetidos à instrumentação rotatória com Hipoclorito de Sódio (NaOCl) e logo após divididos aleatoriamente em 4 grupos da mesma forma que o teste anterior. As raízes foram clivadas no sentido longitudinal e analisadas por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV) para determinar a presença ou ausência da *smear layer*, a erosão dentinária radicular e a distribuição de conteúdo mineral. Os dados foram tabulados e submetidos à análise estatística. O maior valor de microdureza foi obtido pelo grupo controle irrigado com soro. Os grupos que receberam o EDTA e o AG em ambos os pHs obtiveram

valores de microdureza menores que o grupo controle ( $P < 0,05$ ) e foram estatisticamente semelhantes entre si ( $P > 0,05$ ). Em relação à remoção da *smear layer*, o EDTA e o AG com ambos os pHs não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si ( $P > 0,05$ ). Avaliando a erosão dentinária, nos terços cervical e médio o soro apresentou menos erosão que os demais grupos e no terço apical, é estatisticamente semelhante ao AG com pH 5. As substâncias testadas não alteraram a composição química da dentina quando comparado o G1. Foi possível concluir que o AG com ambos os pHs possui a mesma capacidade de remoção da *smear layer* e efeitos semelhantes ao EDTA sob a superfície dentinária radicular.

Palavras-chave: camada de esfregaço, erosão dentária, dureza, EDTA, ácido glicólico.

## ABSTRACT<sup>1</sup>

Considering that during the endodontic treatment the smear layer should be removed and the EDTA has some unfavorable characteristics, the objective of this study was to evaluate the smear layer removal capacity and the effects of Glycolic Acid (GF) on the radicular dentin surface. Twenty uniradicular teeth were sectioned longitudinally in the middle and the forty segments were randomly divided into four groups as follows: negative control, saline; EDTA 17%; AG 17% with pH 1.2; and AG 17% at pH 5. Two ml of 2.5% NaOCl was initially applied to all samples for 1 minute, followed by 5 ml of saline irrigation, shortly after 2 ml of the solution tested acted for 1 minute and finally 5 ml of saline irrigation in order to evaluate the dentin microhardness. Another forty uniradicular human teeth were submitted to rotational instrumentation with sodium hypochlorite (NaOCl) and soon after randomly divided into 4 groups in the same way as the previous test. The roots were cleaved longitudinally and analyzed by scanning electron microscopy (SEM) to determine the presence or absence of smear layer, root dentin erosion and mineral content distribution. Data were tabulated and submitted to statistical analysis. The highest microhardness value was obtained by the control group irrigated with saline solution. The groups that received EDTA and AG at both pHs had microhardness values lower than the

---

<sup>1</sup> Analysis of glycolic acid with solutions for removing the *smear layer* from root canal.

control group ( $P < 0.05$ ) and were statistically similar ( $P > 0.05$ ). Regarding the removal of the smear layer, EDTA and AG with both pHs did not present a statistically significant difference between them ( $P > 0.05$ ). Evaluating dentin erosion, in the cervical and middle thirds the saline presented less erosion than the other groups and in the apical third, it is statistically similar to the AG with pH 5. The substances tested did not alter the chemical composition of the dentin when compared to G1. It was possible to conclude that the AG with both pHs has the same ability to remove smear layer and EDTA-like effects under the radicular dentin surface.

Key words: *smear layer*, tooth erosion, hardness.



## 1. INTRODUÇÃO

O principal objetivo do preparo de canais radiculares é a limpeza e desinfecção utilizando instrumentos endodônticos e substâncias químicas auxiliares (Zandi *et al.*, 2016). Durante esta etapa uma camada amorfa denominada *smear layer* é formada pela ação de instrumentos endodônticos e depositada nas paredes do canal radicular (McComb *et al.*, 1975; Sen *et al.*, 1995). A *smear layer* pode dificultar a penetração de desinfetantes intracanaís e cimentos nos túbulos dentinários (Kennedy *et al.*, 1986). Por isso, diferentes soluções tem sido sugeridas para remover a *smear layer* (Lonttanti *et al.*, 2009; Prado *et al.*, 2011), sendo que o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) é a solução mais utilizada para esta finalidade (Serper *et al.*, 2001; Cobankara *et al.*, 2011; Taneja *et al.*, 2014; De-Deus *et al.*, 2011).

No entanto, o EDTA por possuir um forte efeito desmineralizante faz com que algumas propriedades da dentina sejam afetadas como o alargamento dos túbulos dentinários, amolecimento da dentina, desnaturação das fibras colágenas (Garberoglio & Becce 1994) e erosão dentinária peritubular e intertubular quando usado por um longo tempo (Calt & Serper 2002). A resistência à fratura de raízes tratadas endodonticamente também é influenciada negativamente (Uzunoglu *et al.*, 2012), bem como a extrusão de EDTA além do forame apical deve ser evitada devido a sua citotoxicidade (Segura *et al.*, 1996; Amaral *et al.*, 2007). Além disso, outro fator importante a ser considerado é que ele é sintetizado em escala industrial a partir de etilenodiamina, formaldeído e cianeto de sódio (Elvers 2014). Este método resulta na formação de

impurezas que são consideradas alguns dos principais poluentes orgânicos descartados na água (Sillanpää, 1997). Dessa forma, o EDTA contribui para a toxicidade aquática resultando efeitos crônicos, incluindo o possível desequilíbrio de cálcio corporal em animais e outros organismos (Elvers, 2014).

Por sua vez, o ácido glicólico (GA) é um Alfa Hidroxiácidos (AHAs) de estrutura simples derivado da cana-de-açúcar e outros vegetais doces (Brody 1997). O GA é incolor, inodoro, tem apenas dois carbonos em sua estrutura molecular, é hidrossolúvel, o que o torna mais difuso na fase intracelular. Por ter menor molécula, tem maior poder de penetração do que os outros AHAs, sendo mais rápida sua absorção no local de aplicação (Almeida 2007). O GA é amplamente utilizado em dermatologia para promover a descamação química da pele. Ele possui um efeito direto sobre a pele, especialmente na produção de colágeno (Hashim *et al.* 2014). Além de estudos *in vivo* e *in vitro* demonstrar aumento da proliferação de fibroblastos. (Stojicic *et al.*, 2012). O GA foi classificado como um adequado ácido para o condicionamento de esmalte e dentina para procedimentos restauradores (Cecchin *et al.*, 2018). Por suas propriedades o GA possui um atraente potencial como solução capaz de remover a *smear layer* da parede de canais radiculares.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### *Smear Layer*

Após a preparação mecânica do canal radicular, uma camada irregular amorfa conhecida como *smear layer* é formado nas paredes do canal radicular (Liang *et al.*, 2013).

Em uma revisão de literatura sobre a *smear layer* na endodontia, Czonstkowsky *et al.* (1990) concluíram que ela é composta de componentes orgânicos e inorgânicos, tais como tecido pulpar vital ou necrótico, microorganismos, saliva, células sanguíneas, e detritos de dentina. McComb *et al.* (1975) ao testarem diferentes técnicas de instrumentação, soluções de irrigação e tratamentos químicos após a instrumentação, puderam notar que a *smear layer* não se consisti somente de dentina, mas também dos remanescentes dos processos odontoblásticos, tecido pulpar e bactérias. Lester & Boyde (1977) ao testarem a remoção da *smear layer* com irrigação de NaOCl e concluíram que é composta principalmente de dentina inorgânica que não é removida com essa substância.

A *smear layer* não sendo removida durante o preparo de canais radiculares pode causar efeitos deletérios. Sem *et al.* (1995) concluíram que a *smear layer* pode reduzir a permeabilidade dentinária e dificultar a penetração dos medicamentos nos túbulos dentinários, pois a mesma atua como uma barreira física. Nos túbulos dentinários, onde permanecem as bactérias, a *smear layer* é capaz de selar os mesmos após o preparo do canal radicular. As bactérias contidas dentro dos túbulos dentinários e na camada de *smear layer* propriamente dita poderiam

contribuir para o desenvolvimento ou a persistência da infecção radicular (Akpatá *et al.*, 1982). Além disso, no estudo de Wang *et al.* (2013) mostrou que a *smear layer* possui claramente um efeito negativo sobre a atividade antibacteriana do NaOCl e da CHX em dentina. Outro fator relacionado à presença da *smear layer* é sua influencia negativa na vedação do sistema de canal radicular, podendo comprometer o resultado do tratamento (Torabinejad *et al.*, 2002; Shahravan *et al.*, 2007).

Mancini *et al.* (2009) compararam a eficácia de Bio-MTAD puro (Dentsply Tulsa, Tulsa, OK), EDTA 17% e ácido cítrico à 42% na remoção de *smear layer*. Os autores concluíram que BioPure MTAD e EDTA são mais eficazes na remoção da *smear layer* do que NaOCl 5,25% (grupo controle do estudo), devido suas ações desmineralizantes da dentina intrarradicular que expõem a matrizes de colágeno.

Com o intuito de testar a eficácia do EDTA à 17%, ácido cítrico à 10% e ácido fosfórico (AF) em gel à 37% na remoção da *smear layer*, Prado *et al.* (2011) puderam concluir que nenhuma das substâncias foi efetiva para a remoção da *smear layer* em 30 segundos. Em 1 minuto a solução de AF mostrou melhores resultados do que as demais substâncias. Em 3 minutos, todas as substâncias funcionaram bem nos terços do meio e cervical, embora a solução de AF tenha apresentado excelentes resultados mesmo no terço apical.

Shahriari *et al.* (2017) avaliaram a remoção da *smear layer* com diferentes concentrações de NaOCl associados com a utilização do laser. Foram testados os seguintes protocolos: grupo 1, EDTA 17% e 5,25% de NaOCl, grupos 2, 3 e 4, 1%, 2,5% e 5% de NaOCl ativado com laser Nd:YAG, respectivamente. Foi possível concluir que o método convencional com EDTA 17% e NaOCl foram mais eficientes na remoção da *smear*

*layer* em comparação com o uso de hipoclorito ativado a laser em ambas as concentrações; o material mineral foi removido pelo EDTA, seguido pelo uso de NaOCl que removeu a parte orgânica da *smear layer*.

### **EDTA**

A literatura nos recomenda que a remoção da camada *smear layer* deva ser realizada antes da obturação de canais radiculares (Hülsmann *et al.*, 2003). De acordo com a revisão de literatura de Zehnder *et al.* (2006) o NaOCl é o principal irrigante utilizado durante o tratamento do canal radicular; no entanto, Torabinejad *et al.* (2003) concluíram que apenas o NaOCl não pode efetivamente remover a camada de *smear layer*. De acordo com o estudo de Nygaard-ostby *et al.* (1957) o EDTA tem sido o irrigante mais utilizado para este efeito desde 1957, em uma concentração de 17% e um tempo de aplicação de 1-5 minutos (Calt e Serper, 2002). Mello *et al.* (2010) concluíram que a irrigação contínua com 5 ml de EDTA a 17%, como um irrigante final por 3 minutos remove eficientemente a camada de *smear layer* das paredes do canal radicular. De acordo com Saito *et al.* (2008) a maior remoção da camada de *smear layer* foi encontrada no grupo de irrigação com EDTA por 1 minuto do que os grupos de 30 ou 15 segundos.

Uzunoglu *et al.* (2012) relatam que EDTA a 17% reduziu a resistência à fratura dentária quando comparado com o EDTA a 5% após a aplicação por 10 minutos. No entanto, quando as soluções foram usadas em uma aplicação por 1 min não houve redução na resistência. Por outro lado, a resistência à fratura das raízes foi mais elevada após 1 min de aplicação de EDTA a 17% ou EDTA a 5%, quando comparada com a dos canais radiculares irrigados apenas com água destilada.

No estudo de Turk *et al.* (2017), a força média necessária para fraturar raízes tratadas com EDTA a 5% e de NaOCl a 2,5% foram mais elevadas do que para os dentes tratados com EDTA a 17% e NaOCl a 2,5%. Após a aplicação de clorexidina (CHX) em superfícies de dentina tratadas antes com EDTA, os valores de resistência à fratura foram revertidos. A utilização de CHX aumentou a resistência à fratura de espécimes tratados com EDTA a 5% ou 17%. No entanto, o efeito da CHX foi significativamente superior quando usado em canais radiculares tratadas com EDTA a 17%.

Tem sido relatado que o uso prolongado de EDTA em concentrações elevadas aumenta o risco de fraturas radiculares (Uzunoglu *et al.*, 2012). No estudo de Uzunoglu *et al.* (2016) a resistência à fratura vertical da raiz dentinária tratada com 4 metil-1,24 triazoline-3,5-dione (MTAD) foi menor em comparação com a dentina tratada com EDTA. Uma possível explicação para este resultado pode ser a diferença na duração da irrigação que foi de 1 minuto, em todos os grupos exceto do MTAD, o qual foi utilizado durante 5 minutos, de acordo com as instruções do fabricante.

O EDTA reage com os íons de cálcio na dentina e forma quelatos de cálcio solúveis. Há relatos que o EDTA descalcifica a dentina a uma profundidade de 20-30 micrometros em 5 min (Von Der Fehr *et al.*, 1963). No estudo de Cruz-Filho *et al.* (2011) concluíram que o EDTA e a solução de ácido cítrico tiveram o efeito mais forte sobre a redução da microdureza da dentina em comparação com as outras soluções testadas. Para eles o EDTA atua na redução da microdureza da dentina devido à sua capacidade quelante. Esta reação química pode ser explicada pela teoria do campo cristalino, onde a força de atração entre o metal central e

os ligantes é basicamente eletrostática. Portanto, a força de atração exercida pelo íon metálico é maior do que a força repulsiva oferecida pelos átomos da molécula de EDTA (Hülsmann *et al.*, 2003). No momento em que os íons de cálcio na dentina são formados os grupos carboxílicos da molécula de EDTA são ionizados, libertando átomos de hidrogênio que competem com os íons de cálcio (Hülsmann *et al.*, 2003).

Saleh & Ettman (1999) concluíram que a ação quelante do EDTA induz a uma plasticidade desfavorável sobre os componentes calcificados da dentina, e conseqüentemente uma maior redução na microdureza está prevista.

Os resultados referentes ao estudo de Eldeniz *et al.* (2005) indicam que a irrigação de canais radiculares com EDTA e NaOCl ou solução de ácido cítrico e NaOCl, reduziu a dureza e aumentou a rugosidade da dentina do canal radicular. O efeito de plasticidade que é produzido sobre as paredes dentinárias após as soluções utilizadas pode estar relacionado ao efeito desmineralizante das soluções; para os autores essa alteração pode ser benéfica clinicamente, uma vez que permite a preparação rápida e modelação de canais radiculares estreitos. No entanto, o grau de plasticidade e desmineralização pode ter uma influência sobre as propriedades físicas e químicas desta estrutura heterogênea (Panighi *et al.*, 1992).

Ari *et al.* (2004) avaliaram o efeito de 0,2% gluconato de clorexidina na microdureza e rugosidade da dentina do canal radicular em comparação com soluções irrigantes amplamente utilizadas, 5,25% NaOCl, 2,5% NaOCl, 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (peróxido de hidrogênio), EDTA 17%, 0,2% gluconato de clorexidina e água destilada. Os resultados indicaram que todas as soluções irrigantes, com exceção da clorexidina,

diminuíram significativamente a microdureza da dentina do canal radicular; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 3% e 0,2% de gluconato de cloro-hexidina não tiveram nenhum efeito sobre a rugosidade da dentina do canal radicular.

Cruz-Filho *et al.* (2001) estudaram o efeito de EDTAC (ácido etilenodiamina tetra-acético Cetavlon, um agente tenso-ativo de amônio), CDTA (ciclo-hexano-1,2-diaminotetra-ácido acético), e EGTA (etileno-glicol-bis-(éter-b-amino-etil) na microdureza da dentina radicular do terço cervical de dentes humanos. Os autores compararam as soluções estudadas com água e concluíram que as três soluções quelantes reduziram significativamente a microdureza da dentina.

Para conseguir uma penetração mais profunda dos irrigantes no interior dos túbulos dentinários e canais laterais, agentes tenso-ativos foram adicionados à irrigante para reduzir a tensão superficial (Palazzi *et al.*, 2012). Aslantas *et al.* (2014) comprovaram que o EDTA e NaOCl diminuíram significativamente a microdureza da superfície da dentina radicular, na presença e na ausência de tenso-ativo. Além disso, o EDTA na presença e na ausência de tenso-ativo causou uma redução maior da microdureza do que NaOCl e CHX. No entanto, a adição de agentes tenso-ativos para as soluções de irrigação não alterou significativamente o seu efeito sobre a microdureza da dentina radicular.

A fim de analisar os efeitos sob a superfície dentinária, Baldasso *et al.* (2017) avaliaram microdureza e erosão dentinária do canal radicular de sessenta canais radiculares de incisivos mandibulares instrumentados e dividido aleatoriamente em seis grupos (n = 10) de acordo com os seguintes irrigantes: QMiX, 17% de EDTA, 10% de ácido cítrico (CA), 1% de ácido peracético (PA), 2,5% de NaOCl (controle positivo) e água destilada (controle negativo). Concluíram que



o QMiX e 17% EDTA reduziram a microdureza dentinária em maior profundidade e que o QMiX não causou erosão dentinária.

Eldeniz *et al.* (2005) estudaram microdureza dentinária e rugosidade superficial promovida pelos agentes EDTA/NaOCl e ácido cítrico/NaOCl e concluíram que os efeitos de amolecimento das soluções químicas nas paredes dentinárias podem ser benéficos na clínica, pois permite uma rápida preparação e limagem dos canais radiculares atresicos. No entanto, o grau de amolecimento e desmineralização podem influenciar as propriedades físicas e químicas desta estrutura heterogêneas.

As propriedades químicas e físicas da dentina podem ser afetadas pelas soluções irrigantes utilizadas para a eliminação de microorganismos durante a preparação do canal radicular, tornando o dente mais suscetível à fratura. Saha *et al.* (2017) ao analisarem essas substâncias: NaOCl 3%, ácido acético 17%, quitosana 0.2% e suco de morindacitrifolia 6% (MCJ). Os autores puderam concluir em seu estudo que, MCJ e NaOCl possuem propriedades significativas de remoção de camada *smear layer*, antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória, além de mostrarem efeito insignificante sobre a microdureza da dentina do canal radicular tornando-se solução de irrigação endodôntica adequada.

### **Ácido Glicólico**

Dentre diversos ativos dermatológicos que fazem dos cosméticos cada vez mais eficazes, se destacam os Alfa Hidroxiácidos (AHAs). Dentre os AHAs, o de estrutura mais simples é o GA, derivado da cana-de-açúcar (Brody 1997). Ele tem apenas dois carbonos em sua estrutura molecular e é hidrossolúvel, o que o torna mais difuso na fase

intracelular. Por ter menor molécula, tem maior poder de penetração do que os outros AHAs, sendo mais rápida sua absorção no local de aplicação (Almeida 2007).

Os efeitos terapêuticos de AG são pensados para resultar de remodelação da epiderme e aceleração de descamação (Usuki *et al.*, 2003; Okano *et al.*, 2003; Couch *et al.*, 2002). O AG pode ter um efeito direto sobre a pele, especialmente na produção de colágeno, o que foi confirmado no estudo de Hashim *et al.* (2014) em que o objetivo de seu estudo foi estimular a síntese de colágeno e fibronectina nas células de fibroblasto humanas cultivadas. Os autores concluíram que o AG estimulou a síntese de colágeno em células de cultura de fibroblastos.

No estudo feito por Moon *et al.* (1999), que teve como objetivo investigar o mecanismo de ação do AG em melhorar o antienvhecimento da pele. Os autores concluíram que o AG aplicado topicamente pode melhorar antienvhecimento através da modulação da produção de colágeno. Outra eficácia do AG foi comprovado no estudo de Furukawa *et al.* (2006), onde concluíram que o ácido é altamente eficaz para o tratamento de acne.

Funasaka *et al.* (2001) ao avaliarem a eficácia do AG nas rugas faciais onde a concentração de AG utilizado para o tratamento foi determinada pela reação do eritema de cada sujeito, puderam concluir que o eritema provocado pelo AG se correlaciona com a melhora das rugas. O eritema induz liberação de citocinas e as citocinas podem ser liberadas a partir de células endoteliais ou de células inflamatórias infiltrantes, que também podem ser fatores importantes para melhorar as rugas de forma indireta.

Foi testada a microdureza de dentina e esmalte e a resistência de união de materiais restauradores ao esmalte e dentina após o condicionamento superficial com AG 35% e AF 35% durante 30 segundos no estudo de Cecchin *et al.* (2018). A análise ultra-estrutural da interação superficial e interfacial foi qualitativamente realizada usando MEV. Após as análises, os autores concluíram que o GA condicionou de forma eficaz o esmalte e dentina mostrando aspectos ultra-estruturais semelhantes ao tecido condicionado com o AF. Além disso, os resultados de resistência de união foram similares aos àqueles onde o PA foi utilizado. Dessa forma, GA parece ser um agente condicionante superficial de esmalte e dentina adequado para procedimentos restauradores adesivos.

### 3. PROPOSIÇÃO

#### **Objetivos gerais**

Avaliar o efeito do AG sob a superfície dentinária radicular.

#### **Objetivos específicos**

Comparar a remoção de *smear layer*, a erosão dentinária e a distribuição de conteúdo mineral da dentina radicular após a aplicação das seguintes soluções: EDTA e AG na concentração de 17% e variando o pH desse último em 1,2 ou 5.

Avaliar a microdureza da dentina radicular após aplicação dos mesmos agentes citados acima.

#### **Hipótese nula geral:**

A hipótese nula testada foi que o AG não apresentaria características que possibilitassem sua utilização como agente capaz de remover a *smear layer* de canais radiculares.

#### **Hipóteses nulas específicas:**

O GA, em ambos os pHs, não seria tão efetivo quando o EDTA na remoção de *smear layer*, além de resultar em alta microdureza e alteração dos componentes dentinários.

A dureza da dentina tratada com o AG, em ambos os pHs, seria menor que dureza da dentina tratada com o EDTA.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### Design experimental

Uma nova substância para remoção da *smear layer* dentinária foi testada em duas formas: pH 1,2 e pH 5. O EDTA 17% foi utilizado como um controle positivo, uma vez que é a substâncias tradicionalmente utilizada para remoção da *smear layer* das paredes do canal radicular (Quadro 1). O teste de microdureza dentinária foi utilizado para determinar o potencial de desmineralização do AG e EDTA. A capacidade das mesmas substâncias em remover *smear layer* das paredes do canal radicular e causar erosão dentinária foi avaliado por meio da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A análise dos componentes dentinários também foi feita por meio do MEV.

Quadro 1. Divisão dos grupos para análise de remoção da *smear layer*.

	Solução / Concentração	Ph	Quantidade	Tempo de aplicação
Grupo 1	Soro Fisiológico	6,0	2 mL	1 min.
Grupo 2	EDTA 17%	7,0	2 mL	1 min.
Grupo 3	GA 17%	1,2	2 ml	1 min.
Grupo 4	GA 17%	5,0	2 ml	1 min.

### **Obtenção dos dentes**

Por utilizar dentes humanos, o projeto foi submetido ao comitê de ética da Universidade de Passo Fundo (UPF) antes do início das etapas experimentais obtendo aprovação (Número do parecer: 2.080.284). Foram selecionados sessenta dentes humanos unirradiculares apresentando raiz reta e canal único. Todos os dentes foram radiografados para verificar a presença de um único canal com ápice completamente formado e a ausência de reabsorção intrarradicular ou obturação do canal radicular. Tecidos moles superficiais foram removidos com uma cureta e os dentes foram congelados até sua utilização.

### **Microdureza dentinária**

Vinte dentes humanos unirradiculares tiveram suas coroas removidas e foram então seccionadas longitudinalmente em Cortadora Metalográfica (Isomet 2000; Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, USA) originando cada raiz em segmentos vestibular e lingual, totalizando quarenta segmentos com 15mm de comprimento (Figura 1A e 1B). Os segmentos de raiz foram, então, horizontalmente incluídos em resina acrílica autopolimerizável (Jet, Art. Clássico, São Paulo, SP), deixando a dentina exposta (Figura 1 C). Em seguida, as superfícies de dentina foram planificadas com lixas abrasivas (500, 800, 1000, e 1200 de granulação) em água destilada para remover quaisquer arranhões superficiais e finalmente polidas com suspensão de 0,1 mm de alumina, sobre um disco giratório de feltro.

Os quarenta segmentos foram divididos aleatoriamente em quatro grupos e a dentina foi tratada da seguinte forma: controle negativo, soro

fisiológico; EDTA 17%; AG 17% com pH 1,2; e, AG 17% com pH 5 (Quadro 1). Dois mL de 2,5% NaOCl foi aplicado inicialmente em todas as amostras durante 1 minuto, seguido por 5 ml de irrigação de soro fisiológico, logo após 2 ml da solução testada, como descrito acima, agiu durante 1 minuto e por fim 5 ml de irrigação de soro fisiológico (Figura 1D).

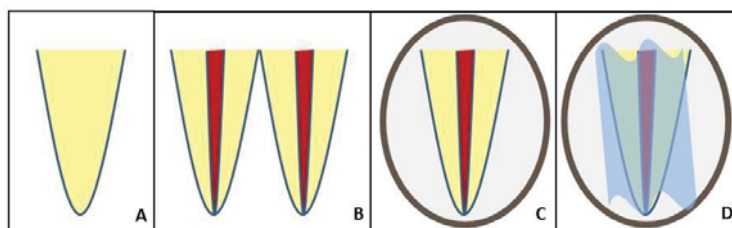


Figura 1. Esquema do protocolo para teste de microdureza. (A) Remoção das coroas. (B) Secção longitudinal originando dois segmentos. (C) Inclusão resina acrílica com a dentina exposta. (D) Aplicação das soluções sobre a superfície dentinária.

A microdureza da dentina foi medida com um identador de Knoop com 40x de ampliação (Shimadzu HMV-2000; Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) sob uma carga de 25g e um tempo de permanência de 15 segundos. Em cada amostra, foram feitas três identações ao longo de linhas paralelas à borda da luz do canal radicular. A primeira identificação foi feita a 1.000  $\mu\text{m}$  da entrada do canal radicular (Figura 2 A), e as outras duas identações foram feitas a uma distância de 200  $\mu\text{m}$  uma da outra (Cruz-Filho *et al.*, 2011) (Figura 2B e 2C). O comprimento médio das duas diagonais foi utilizado para calcular o valor de microdureza (dureza do número Knoop [KHN]). O valor de dureza representativo para cada espécime foi obtido como a média dos resultados para as três identações.

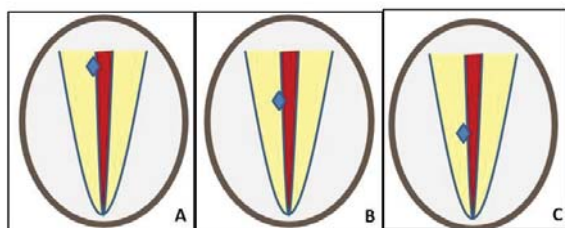


Figura 2. Esquema do protocolo indicando o local de indentação. (A) Primeira indentação a 1.000  $\mu\text{m}$  da entrada do canal radicular. (B) Segunda indentação a 200  $\mu\text{m}$  da primeira indentação. (C) Terceira indentação a 200  $\mu\text{m}$  da segunda indentação.

Para avaliar a microdureza dentinária foi realizado ANOVA de um fator e teste de comparação de Tukey ( $\alpha=0,05$ ).

#### **Preparo das amostras para a Microscopia Eletrônica por Varredura (MEV)**

As coroas dos outros quarenta dentes humanos foram removidas de forma semelhante ao teste anterior para padronizar o comprimento de raiz em 15 mm. Sulcos longitudinais foram então criados nas superfícies vestibular e lingual de cada raiz usando um disco de diamante dupla face (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil) em baixa velocidade (Figura 3A, 3B e 3C). Um cuidado foi tomado para que o sulco criado não alcançasse a luz do canal radicular. O comprimento de trabalho foi estabelecido por meio da inserção de uma lima tipo K calibre 10 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) em cada canal radicular até que fosse visível no forame apical (observado usando lupas de aumento). O comprimento de trabalho foi determinado no ponto “zero”, ou seja, no forame apical (Figura 3C).



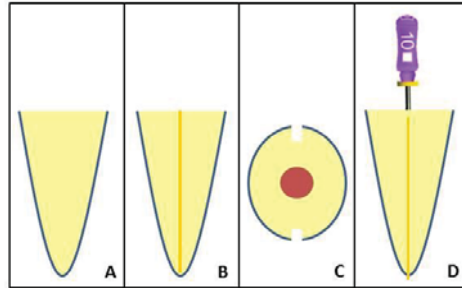


Figura 3. Esquema representando o preparo das amostras. (A) Remoção das coroas. (B) Confeção de sulcos longitudinais. (C) Determinação do comprimento de trabalho com lima tipo K calibre 10.

O preparo químico-mecânico foi realizado utilizando instrumentos rotatórios de níquel titânio ProTaper Next (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) de acordo com as recomendações do fabricante. A sequência de limas utilizadas foram X1, X2 e X3 em uma ou mais passagens até o comprimento de trabalho ser alcançado. A cada instrumento sequencial os canais foram irrigados com 2 mL de NaOCl 2,5% (Figura 4). As limas rotatórias foram utilizadas em uma rotação constante a uma velocidade de 300 rotações por minuto e torque de 2 newton centimeter.

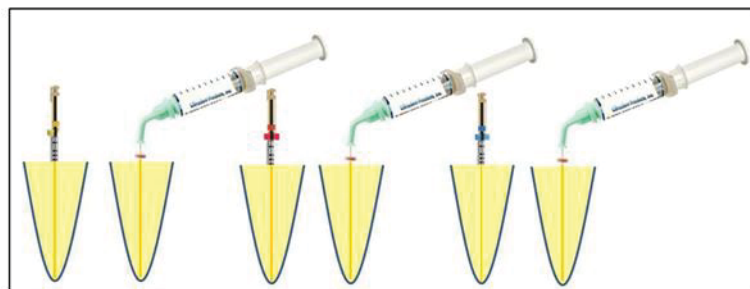


Figura 4. Esquema representando o preparo das amostras na etapa de instrumentação rotatória. (A) Lima X1, seguida por irrigação com 2 mL de NaOCl 2,5%. (B) Lima X2, seguida por irrigação com 2 mL de NaOCl 2,5%. (C) Lima X3, seguida por irrigação com 2 mL de NaOCl 2,5%.

Logo após, as quarenta raízes foram aleatoriamente divididas em 4 grupos de acordo com a substância utilizada para remoção da *smear layer* de forma semelhante ao teste de microdureza (Quadro 1). Foi utilizado 2 mL das soluções experimentais citadas anteriormente de forma similar em todos os grupos, como segue: as soluções foram introduzidas no canal usando agulhas de aço inoxidável calibre 29 (NaviTip Tips, Ultradent Products Inc., South Jordan, UT, EUA). A ponta da agulha foi inserida até 3 mm aquém do comprimento de trabalho. Em todos os grupos, após a utilização da substância irrigadora foi finalizado a irrigação com 5 mL de soro fisiológico. Após a utilização dos protocolos de irrigação acima mencionados, cada canal radicular foi seco com cones de papel esterilizados (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Suíça).

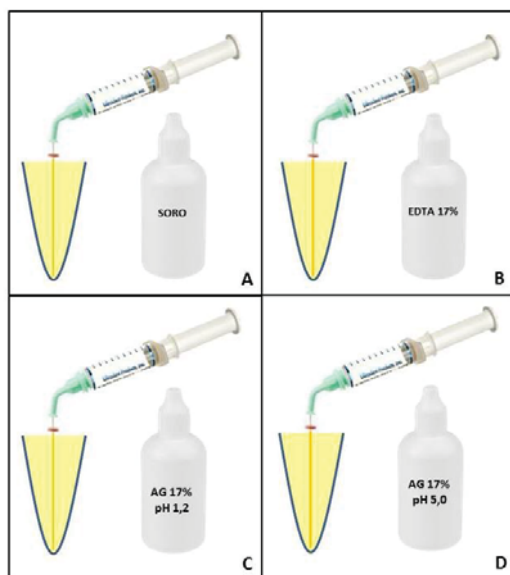


Figura 5. Esquema ilustrando a divisão dos grupos. (A) G1 controle negativo, soro fisiológico. (B) G2, EDTA 17%. (C) G3, AG 17% com pH 1,2. (D) G4, AG 17% com pH 5.

### **MEV: avaliação da capacidade de remoção da *smear layer* e erosão dentinária**

Após o preparo dos canais as quarenta raízes foram então divididas em duas metades, utilizando uma lâmina de micrótomo e um martelo, totalizando oitenta metades (Figuras 6A e 6B).

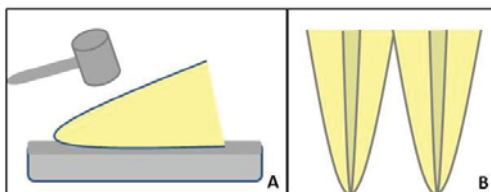


Figura 6. Esquema ilustrativo do preparo das amostras para análise em MEV. (A) Divisão da amostra com lâmina de micrótomo e martelo odontológico. (B) As amostras divididas em duas metades.

Os espécimes foram desidratados utilizando concentrações crescentes de etanol (25% por 20 minutos, 50% por 20 minutos, 75% por 20 minutos, 95% por 30 minutos e 100% por 60 minutos). Após a desidratação, foram montados em bases de metal, revestidos com ouro/paládio usando uma máquina de metalização de amostras (Quorum Technologies Ltd, modelo: Q150R ES) e examinadas em MEV (Shimadzu, SSX-550A, Tóquio, Japão).

As imagens foram obtidas para observar a morfologia da superfície da parede do canal em 500x de ampliação e 20 kV ao longo do terço coronal (10-12 mm do ápice), médio (6-7 mm do ápice) e apical (1-2 mm de ápice) de cada espécime (Ballal *et al.*, 2016) (Figura 7). Estas áreas foram avaliadas por dois avaliadores cegos independentes para analisar a presença ou ausência da camada *smear layer* designando os scores de cada grupo.

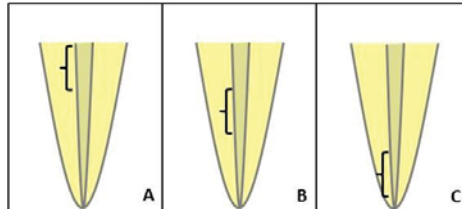


Figura 7. Esquema ilustrativo das áreas onde foram realizadas as análises da camada smear layer. (A) Terço coronal (10-12 mm do ápice). (B) Terço médio (6-7 mm do ápice). (C) Terço apical (1-2 mm de ápice).

As imagens foram classificadas de acordo com os critérios descritos por Hülsmann *et al.* (1997) : Score 1: sem *smear layer*, túbulos dentinários abertos. Score 2: pequena quantidade de *smear layer*, a maioria dos túbulos dentinários abertos. Score 3: *smear layer* homogênea cobrindo a parede do canal radicular, apenas alguns túbulos dentinários abertos. Score 4: parede completa do canal radicular coberta por *smear layer* homogênea, sem túbulo dentinário aberto. Score 5: *smear layer* não-homogênea pesada cobrindo a totalidade dos túbulos dentários (Figura 8).

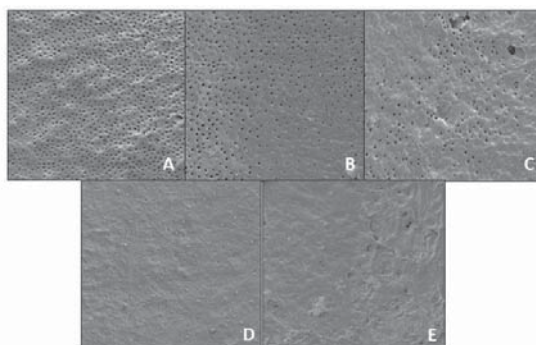


Figura 8. Scores para determinar a presença ou ausência da camada smear layer (A) Score 1: sem *smear layer*, túbulos dentinários abertos. (B) Score 2: pequena quantidade de *smear layer*, alguns túbulos dentinários abertos. (C) Score 3: *smear layer* homogênea cobrindo a parede do canal radicular, apenas alguns túbulos dentinários abertos. (D) Score 4: parede completa do canal radicular coberta por *smear layer* homogênea, sem túbulo dentinário aberto. (E) Score 5: *smear layer* não-homogênea pesada cobrindo a totalidade dos túbulos dentários.

Foi realizado Kruskal-Wallis e teste de comparação de Dunn ( $\alpha=0,05$ ) para avaliar a capacidade de remoção da *smear layer* nos terços cervical, médio e apical dos diferentes grupos experimentais.

As mesmas imagens foram analisadas por dois avaliadores cegos independentes a fim de verificar a erosão dentinária radicular. As imagens foram classificadas de acordo com os critérios descritos por Torabinejad *et al.* (2003): score 0, *smear layer* cobrindo quase toda a superfície dentinária, com poucos ou nenhum túbulo aberto; score 1, sem erosão: todos os túbulos visivelmente normais em aparência e tamanho; score 2, erosão moderada: a dentina peritubular corroída; score 3, erosão severa, a dentina intertubular destruída e os túbulos conectados entre si (Figuras 9 e 10).

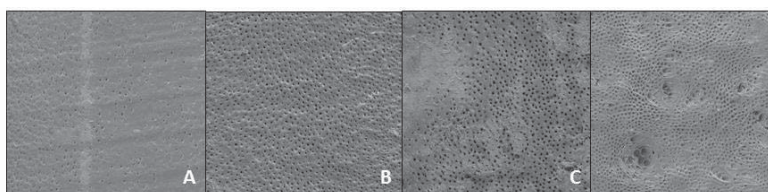


Figura 9. Scores para determinar a presença ou ausência de erosão dentinária. (A) Score 0: *smear layer* cobrindo quase toda a superfície dentinária, com poucos ou nenhum túbulo aberto; (B) Score 1: sem erosão: todos os túbulos visivelmente normais em aparência e tamanho; (C) Score 2: erosão moderada: a dentina peritubular corroída; (D) Score 3: erosão severa: a dentina intertubular destruída e os túbulos conectados entre si.

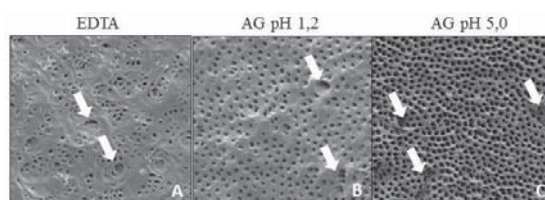


Figura 10. Erosão causada pelas soluções testadas. (A) Erosão Score 2, com dentina peritubular destruída, causada pelo EDTA. (B) Estrutura tratada com AG pH 1,2, apresentando algumas regiões já com erosão Score 3, túbulos conectados entre si. (C) Dentina intertubular já destruída, Score 3 correspondente ao grupo em que foi testado AG pH 5,0.

Para avaliar os escores de erosão nos terços cervical, médio e apical dos grupos experimentais, foi realizado Kruskal-Wallis e teste de comparação de Dunn ( $\alpha=0,05$ ).

#### **Avaliação do conteúdo mineral / Dispersão de Energia X-Ray Spectroscopy (EDS)**

As mesmas amostras preparadas no teste anterior foram utilizadas, onde toda a área da matriz dentinária foi visualizada sob MEV com uma ampliação normalizado de 200x (650 x 420  $\mu\text{m}$ ) foi analisada

por EDS para determinar a percentagem atômica (at.%) de cálcio (Ca),  
fósforo (P), sódio (Na), cloro (Cl), magnésio (Mg).



## 5. RESULTADOS

### Avaliação de microdureza

Os valores de microdureza de Knoop (média e seus respectivos desvios-padrão) para os agentes em estudo estão dispostos na Tabela 1. Foi encontrada diferença significativa entre os grupos experimentais ( $p < 0,001$ ). O maior valor de microdureza foi obtido pelo grupo controle irrigado com soro. Os grupos que receberam o EDTA e o AG em ambos os pHs obtiveram valores de microdureza menores que o grupo controle e foram estatisticamente semelhantes entre si.

Tabela 1. Valores de média de microdureza e desvio-padrão para os grupos experimentais.

GRUPOS EXPERIMENTAIS	Média	DP	Teste de Tukey
Soro	40,3	3,7	A
NaOCl + EDTA	21,2	4,5	B
NaOCl+ AG pH 1,2	24,0	2,5	B
NaOCl+ AG pH 5	25,1	3,7	B

NaOCl, hipoclorito de sódio; EDTA, ácido etilenodiaminotetracético; AG, ácido glicólico. Medias seguidas de letras diferentes na coluna são estatisticamente diferentes ( $p < 0,001$ ).

### Avaliação da remoção de *smear layer*

O coeficiente de teste Kappa indicou uma alta concordância entre os examinadores sobre a interpretação dos escores em relação à remoção de *smear layer* (Kappa = 0,917). Os scores da *smear layer* (%) após o

uso das diferentes soluções ao longo dos vários terços das paredes do canal está resumida na Figura 11.

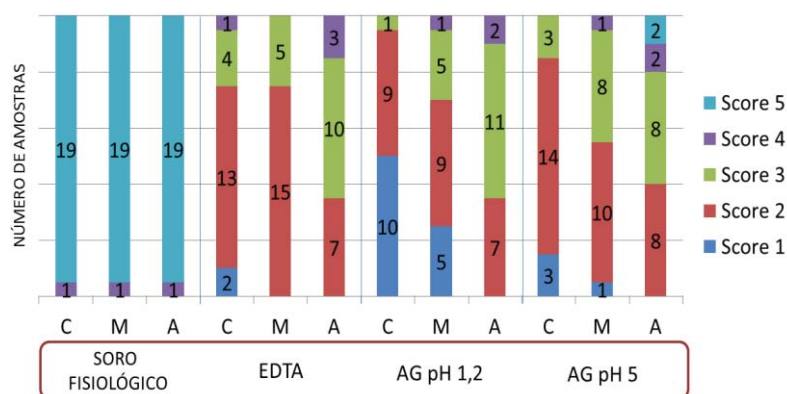


Figura 11. Porcentagem de remoção de *smear layer* entre os fatores de teste no terceiro coronal, terço médio e terço apical do sistema de canal radicular.

Foi encontrada diferença significativa entre os grupos experimentais ( $p < 0,001$ ), independente do terço avaliado, sendo que o irrigado com soro apresentou predominância do score 5 (Figura 11 e Tabela 2), ou seja, não apresentou capacidade de remoção de *smear layer*. Avaliando os grupos G2, G3 e G4 separadamente, foi observada semelhança estatística entre os escores obtidos no terço cervical e médio, e diferença estatística no terço cervical e apical ( $p < 0,05$ ), sendo maior o escore no terço apical, mostrando a dificuldade de se obter uma adequada limpeza no terço apical. Avaliando os grupos G2, G3 e G4 entre si, foi observado que não houve diferença estatística analisado cada terço individualmente. A Figura 12 ilustra o comportamento de cada grupo em estudo.

Tabela 2. Valores de mediana (Md), primeiro (Q1) e terceiro quartil (Q3) dos escores de remoção de *smear layer* para os grupos experimentais.

GRUPOS EXPERIMENTAIS	CERVICAL			MÉDIO			APICAL		
	Md	Q <sub>1</sub>	Q <sub>3</sub>	Md	Q <sub>1</sub>	Q <sub>3</sub>	Md	Q <sub>1</sub>	Q <sub>3</sub>
Soro	5,0 <sup>aA</sup>	5,0	5,0	5,0 <sup>aA</sup>	5,0	5,0	5,0 <sup>aA</sup>	5,0	5,0
NaOCl+ EDTA	2,0 <sup>bB</sup>	2,0	2,5	2,0 <sup>bAB</sup>	2,0	2,5	3,0 <sup>aA</sup>	2,0	3,0
NaOCl+ AG pH 1,2	1,5 <sup>bB</sup>	1,0	2,0	2,0 <sup>bAB</sup>	1,5	3,0	3,0 <sup>aA</sup>	2,0	3,0
NaOCl+ AG pH 5	2,0 <sup>bB</sup>	2,0	2,0	2,0 <sup>bAB</sup>	2,0	3,0	3,0 <sup>aA</sup>	2,0	3,0

\*medianas seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna são estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

\*medianas seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma linha são estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

Avaliando os grupos G2, G3 e G4 separadamente, foi observada semelhança estatística entre os escores obtidos no terço cervical e médio, e diferença estatística no terço cervical e apical ( $p < 0,05$ ), sendo maior o escore no terço apical, mostrando a dificuldade de se obter uma adequada limpeza no terço apical. Avaliando os grupos G2, G3 e G4 entre si, foi observado que não houve diferença estatística analisado cada terço individualmente. A Figura 12 ilustra o comportamento de cada grupo em estudo.

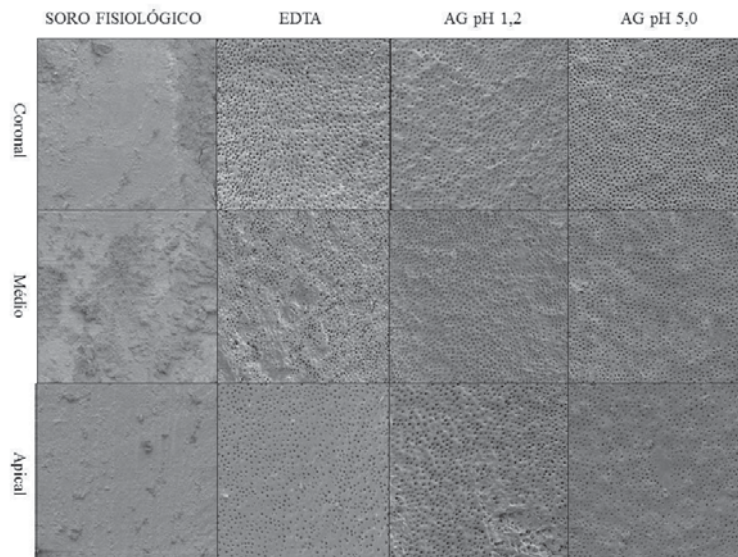


Figura 12. Imagens microscópicas eletrônicas de varredura dos grupos e os terços radiculares estudados.

### **Avaliação de erosão**

O coeficiente de teste Kappa indicou uma alta concordância entre os examinadores sobre a interpretação dos escores de erosão (Kappa = 0,876). A distribuição de erosão (em porcentagem (%)) ao longo dos vários terços das paredes do canal radicular estão resumidas na Figura 13.

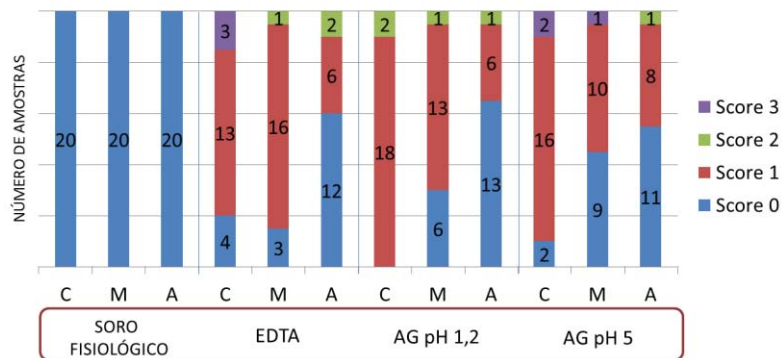


Figura 13. Análise estatística sobre o Grau de Erosão.

Os resultados de erosão estão resumidos na Tabela 3. O G1 não conseguiu remover a *smear layer*, e os túbulos dentinários pareciam obliterados. O G4 apresentou resultados estatisticamente semelhantes ao G2 e G3 no terço cervical e médio, porém no terço apical não foi possível detectar erosão dentinária devido presença de *smear layer*.

Tabela 3. Análise estatística sobre o Grau de Erosão. Valores de mediana (Md), primeiro (Q1) e terceiro quartil (Q3) dos escores de erosão para os grupos experimentais.

GRUPOS EXPERIMENTAIS	CERVICAL			MÉDIO			APICAL		
	Md	Q <sub>1</sub>	Q <sub>3</sub>	Md	Q <sub>1</sub>	Q <sub>3</sub>	Md	Q <sub>1</sub>	Q <sub>3</sub>
Soro	0,0 <sup>bA</sup>	0,0	0,0	0,0 <sup>bA</sup>	0,0	0,0	0,0 <sup>bA</sup>	0,0	0,0
NaOCl + EDTA	1,0 <sup>aA</sup>	0,5	1,0	1,0 <sup>aA</sup>	1,0	1,0	0,5 <sup>aA</sup>	0,0	1,0
NaOCl+ AG pH 1,2	1,0 <sup>aA</sup>	1,0	1,0	1,0 <sup>aAB</sup>	0,0	1,0	0,5 <sup>aB</sup>	0,0	1,0
NaOCl+ AG pH 5	1,0 <sup>aA</sup>	1,0	1,0	1,0 <sup>aAB</sup>	0,0	1,0	0,0 <sup>abB</sup>	0,0	1,0

\*medianas seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna são estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

\*medianas seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma linha são estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

#### **Avaliação do conteúdo mineral**

A percentagem atômica (at.%) de cálcio (Ca), fósforo (P), sódio (Na), cloro (Cl), magnésio (Mg) após o uso dos agentes quelantes ao longo dos vários terços das paredes do canal são resumidas coletivamente na Figura 14. De acordo com os resultados obtidos pela análise em EDS, não houve mudanças na composição química da dentina quando comparado o grupo controle com as demais soluções, mantendo assim Ca, P, Na, Cl, Mg estáveis.

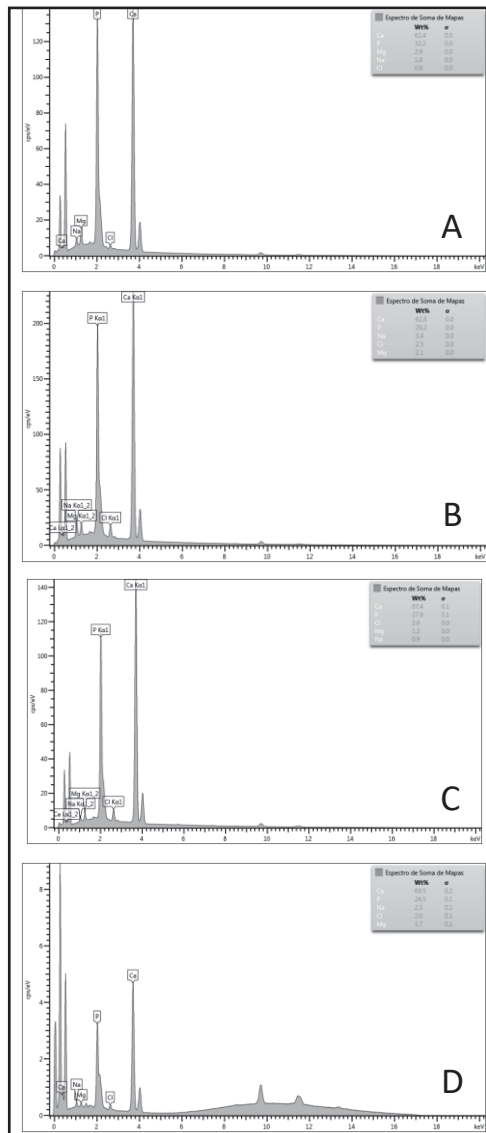


Figura 14. Percentagem atômica (at.%) de cálcio (Ca), fósforo (P), sódio (Na), cloro (Cl), magnésio (Mg). (A) Soro fisiológico. (B) NaOCl + EDTA. (C) NaOCl + AG pH 1,2. (D) NaOCl + AG pH 5.

## 6. DISCUSSÃO

O EDTA é uma substância eficiente na redução da microdureza dentinária devido sua ação quelante. Uma das teorias que tenta explicar essa reação química é a teoria do campo cristalino, onde a força de atração entre o metal central e os ligantes é puramente eletrostática. Portanto, a força de atração exercida pelo íon metálico é maior do que a força repulsiva oferecida pelos átomos da molécula de EDTA. Os agentes quelantes como o EDTA formam um complexo estável com os íons de cálcio na dentina. Neste momento, os grupos carboxílicos da molécula de EDTA são ionizados, liberando átomos de hidrogênio que competem com os íons de cálcio (Hülsmann *et al.*, 2003).

A hipótese nula específica de que a microdureza da dentina tratada com o AG em ambos os pH seria menor do que à microdureza da dentina tratada com o EDTA foi rejeitada, uma vez que os valores de microdureza da dentina tratada com AG, em ambas as concentrações, foi semelhante aos valores de microdureza da dentina tratada com EDTA. No entanto, se comparado com o grupo controle, ambas as soluções promoveram redução nos valores de microdureza. Estes resultados estão de acordo com estudos anteriores, (Taneja *et al.*, 2014; Tartari *et al.*, 2013; Aranda-Garcia *et al.*, 2013; Das *et al.*, 2014) em que soluções ativas também reduziram a microdureza dentinária.

O efeito de redução de microdureza, por um lado, é desejável na camada ao lado do lúmen do canal (Taneja *et al.*, 2014). O uso de agentes quelantes para irrigação final remove a camada *smear layer* e reduz a microdureza dentinária, o que facilita a ação dos instrumentos



endodônticos nas paredes do canal radicular (Cruz-Filho *et al.*, 2011). Foi sugerido que, embora as substâncias químicas possam reduzir a dureza dos dentes, essa alteração na dureza não interfere na resistência do substrato (Marcelino *et al.*, 2014). Em contraste, Uzunoglu *et al.* (2012) mostraram que a resistência à fratura das raízes tratadas endodonticamente foi afetada de forma diferente pelas várias concentrações de EDTA.

No presente estudo, ao analisarmos a ação dos irrigantes na remoção da *smear layer* no terço coronal e médio, ambos removeram a *smear layer* igualmente. Rejeitando a hipótese nula específica testada, uma vez que o AG apresentou características que possibilitam sua utilização como agente capaz de remover a *smear layer* de canais radiculares. No estudo de Ballal *et al.* (2016), o EDTA 17%, também apresentou eficácia similar ao nosso estudo em remover a camada de *smear layer*. O EDTA possui a ação de quelação que é um processo físico-químico que promove a absorção de íons metálicos. No caso, específico da dentina, a solução reage com os íons de cálcio dos cristais de hidroxiapatita alterando a microestrutura da dentina e mudando a relação Ca/P. Esta mudança interfere na composição orgânica e inorgânica do tecido com consequente alteração de permeabilidade, solubilidade, microdureza dentinária. Além de descalcificar a dentina a uma profundidade de 20 a 30  $\mu\text{m}$  em 5 minutos (De-Deus *et al.*, 2006). O cálcio do tecido dentinário reage por meio de força eletrostática, com a molécula de EDTA formando um complexo entre o agente quelante e o íon metálico (Hülsmann *et al.*, 200). Por essa ação quelante e pela reação por meio da força eletrostática o EDTA pode ser considerado um efetivo agente quelante.

O AG com pH 1,2 e pH 5,0 foram estatisticamente semelhantes ao EDTA 17% com relação a remoção da *smear layer* nos terços coronal e médio (Figura 12). Cecchin *et al.* (2018) observaram que o AG possui a mesma capacidade de condicionamento de esmalte e dentina que o ácido fosfórico concordando com os achados deste estudo.

O ácido cítrico é um ácido orgânico fraco, que pode ser encontrado na maioria das frutas, principalmente nas cítricas (Eldeiz *et al.*, 2005). Uma vez que o ácido cítrico é AHA assim como o ácido glicólico, podemos concluir que os mesmos possuem semelhante mecanismo de ação sobre a superfície dentinária. Tem sido mostrado na literatura que o ácido cítrico apresenta uma capacidade de extrair íons de cálcio da dentina, sendo capaz de remover o componente inorgânico da *smear layer* e descalcificar a dentina (Pias *et al.*, 1972; Fuller *et al.*, 1977). Com base em nossos resultados, podemos supor que o AG, extrai íons de cálcio da dentina, assim como o EDTA e o ácido cítrico removendo componentes inorgânicos da *smear layer* e desmineralizando a dentina (Perez-Heredia *et al.*, 2008).

Neste estudo verificou-se que todas as substâncias experimentais estudadas possuem menos eficácia na remoção da *smear layer* no terço apical do canal radicular quando comparado aos terços cervical e médio, como em estudos anteriores que também avaliaram a remoção da *smear layer* (Baumgartner *et al.*, 1987; Torabinejad *et al.*, 2003; Torabinejad *et al.*, 2013; Eliot *et al.*, 2014). O largo diâmetro do canal nos terços cervical e médio torna a dentina dessa região exposta à um maior volume da solução irrigante, permitindo seu melhor fluxo e conseqüentemente tornando a região mais acessível aos procedimentos de limpeza (Wayman *et al.*, 1979; Torabineja *et al.*, 2003). Diferente do terço apical

que apresenta um diâmetro menor do que os outros terços do canal radicular. Isso pode ocorrer devido à presença de dentina esclerótica no terço apical do sistema radicular, onde os irrigantes podem não ter ação pronunciada (Vasiliadis *et al.*, 1983; Paque *et al.*, 2006). Além de já ter sido concluído em alguns estudos que apesar da irrigação por seringa ser considerada um procedimento padrão para a irrigação do canal radicular, não é uma técnica eficiente no terço apical (Peeters *et al.*, 2011) por ser o terço mais atrésico do canal radicular o que dificulta a circulação e a ação das soluções de irrigação (Arslan *et al.*, 2013).

Alguns estudos obtiveram sucesso na remoção da *smear layer* no terço apical com a solução de EDTA 17%, porém nestes estudos é realizada a ativação da solução irrigante com algum dispositivo auxiliar (Lui *et al.*, 2007; Mancini *et al.*, 2013; Kato *et al.*, 2016; Simezo *et al.*, 2017). Cecchin *et al.* (2018) demonstram que ao friccionar o AG durante o processo de condicionamento pode afetar significativamente a resistência de união de resina composta ao esmalte quando utilizado GA. Portanto, pode-se especular que a ativação do GA com ponta ultrassônica ou outro instrumento/dispositivo poderá melhorar a capacidade de remoção da *smear layer* e também melhorar a limpeza no terço apical do canal radicular.

Neste estudo o objetivo foi também avaliar também a erosão da dentina. Na presente investigação, os grupos EDTA, AG pH 1,2 e AG pH 5 foram eficazes na remoção da camada de esfregaço e na abertura dos túbulos dentinários (Figura 10). No entanto, esses protocolos causaram erosão em túbulos dentinários principalmente no terço coronal e médio; já no terço apical, por ser uma região de difícil acesso da

substancia, a presença de *smear layer* impossibilitou a avaliação da erosão, o que está de acordo o estudo de Seghiri *et al.* (2009).

Sabe-se que, durante a irrigação do canal, a solução inicialmente entra em contato direto com a camada mais superficial da dentina do canal radicular e então se difunde para a estrutura dentinária tubular, promovendo sua limpeza. Porém a ação desmineralizante dessas soluções produzem alterações na permeabilidade da estrutura, modificando também, suas propriedades mecânicas como a erosão dentinária (Barbosa *et al.*, 1994). Qian *et al.* (2011) sugerem que a erosão da dentina pode contribuir para fratura de raiz vertical. No entanto, de acordo com Saghiri *et al.* (2009) erosão não é a principal causa de redução da dureza da dentina, pois a profundidade da penetração do irrigante pode ser o fator-chave. Isso pode ser explicado por diferentes padrões de desmineralização causados por soluções de irrigação (Cobankara, *et al.*, 2011).

Os resultados da avaliação dos componentes dentinários detectáveis pela MEV demonstraram que todos os componentes analisados (Ca, P, Na, C e Mg) mantiveram-se estáveis em todos os grupos experimentais quando comparados com o grupo controle, o qual a irrigação foi realizada com soro fisiológico. Esses resultados ajudam a rejeitar a hipótese nula específica. Isso pode ser atribuído a desmineralização menos agressiva do EDTA e AG em diferentes pHs, suficiente para não causar a remoção dos minerais, concordando com o estudo de Ballal *et al.* (2016), o qual testou QMix, ácido maleico (AM) 7% e EDTA 17%; apenas as substâncias AM e QMix removeram Ca e P da superfícies dentinária, e o EDTA 17% não interferiu no conteúdo mineral. A alteração do conteúdo mineral pode estar associada ao efeito

de desmineralização aumentada (Eliot *et al.*, 2014). Há diversas técnicas para avaliar o efeito de descalcificação, como fotometria de chama, espectrometria de absorção atômica, espectrometria de emissão atômica de átomos acoplados ou espectrometria de dispersão de energia foram utilizadas para (Rotstein *et al.*, 1996; Sayin *et al.*, 2009; González-López *et al.*, 2006). No entanto, MEV-EDS que foi utilizado no presente estudo, é uma técnica microanalítica para determinação quantitativa de minerais em uma amostra dentária (Arends *et al.*, 1992). A técnica também permite análises químicas não destrutivas do espécime com uma resolução espacial na gama de micrometros.

## 7. CONCLUSÕES

Em conclusão, o presente estudo demonstra que AG 17% com pH 1,2 e AG 17% com pH 5,0 resultaram em similaridade na redução da microdureza, na remoção de *smear layer* e não alteraram os minerais da estrutura dentária, quando comparados com o EDTA. Esses resultados rejeitam a hipótese nula geral deste estudo. Dessa forma, o AG pode ser uma boa opção para ser utilizado como irrigante final durante o preparo de canais radicular.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O EDTA é o agente quelante mais utilizado nos dias de hoje, apesar de possuir qualidades em suas propriedades, possui desvantagens, e um substituto com os mesmos fins é de grande relevância clínica. A eficiência de soluções irrigadoras depende de muitos fatores, tais como o tempo de aplicação, o pH, a concentração da solução e quantidade de solução disponível. Uma vez que a solução experimental conhecida como ácido glicólico apresentou resultados favoráveis na presente pesquisa apresentada, novos trabalhos devem ser realizados para avaliação de suas propriedades específicas, bem como sua citotoxicidade.

## REFERÊNCIAS

- AKPATA E. S.; BLECHMAN H. Bacterial invasion of pulpal dentin wall in vitro. *J Dent Res*, v. 61, n. 2, p. 435-8, 1982.
- ALMEIDA, E. F. Utilização do Ácido Glicólico nas Alterações Estéticas. *Rev. Personalité*, v. 11, n. 56, p. 124-135, 2007.
- AMARAL K. F.; ROGERO M. M.; FOCK R. A.; *et al.* Cytotoxicity analysis of EDTA and citric acid applied on murine resident macrophages culture. *Int Endod J*, v. 40, n. 5, p. 338-43, 2007.
- ARANDA-GARCIA A. J.; KUGA M. C.; CHAVÉZ-ANDRADE G. M.; KALATZIS-SOUSA N. G.; HUNGARO DUARTE M. A.; FARIA G.; *et al.* Effect of final irrigation protocols on microhardness and erosion of root canal dentin. *Microsc Res Tech*, v. 76, n. 10, p. 1079-83, 2013.
- ARENDS J.; TEN BOSCH J. J. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res*, v.7, n. 1, p. 924-928, 1992.
- ARI H.; ERDEMIR A.; BELLI S. Evaluation of the effect of endodontic irrigation solutions on the microhardness and the roughness of root canal dentin. *J Endod*. v. 30, n. 11, p. 792-5, 2004.
- ARSLAN H.; AYRANCE L. B.; KARATAS E.; *et al.* Effect of agitation of EDTA with 808-nanometer diode laser on removal of *smear layer*. *J Endod*, v. 39, n. 12, p. 1589-92, 2013.
- ASLANTAS E. E.; BUZOGLU H. D.; ALTUNDASAR E.; SERPER A. Effect of EDTA, sodium hypochlorite, and chlorhexidine gluconate with or without surface modifiers on dentin microhardness. *J Endod*, v. 40, n. 6, p. 876-9, 2014.
- BALDASSO F. E. R.; ROLETO L.; SILVA V. D. D.; MORGENTAL R. D.; KOPPER P. M. P. Effect of final irrigation protocols on microhardness reduction and erosion of root canal dentin. *Braz Oral Res*, v.31, n. 40, 2017.



BALLAL N. V.; JAIN I.; TAY F. R. Evaluation of the smear layer removal and decalcification effect of QMix, maleic acid and EDTA on root canal dentine. *Dent*, v. 51, n. 1, p. 62-8, 2016.

BARBOSA S. V.; SAFAVI K. E.; SPANGBERG S. W.; Influence of sodium hypochlorite on the permeability and structure of cervical human dentine. *Int Endod J*, v. 27, n. 6, p. 309-312, 1994.

BAUMGARTNER J. C.; MADER C. L. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. *J Endod*, v. 13, n. 4, p. 147-57, 1987.

BRODY, H. J. Chemical Peeling and Resurfacing. 2. ed. St. Louis, MO: 1997.

CALT S.; SERPER A. Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. *J Endod*, v. 28, n. 1, p. 17-9, 2002.

CECCHIN C.; FARINA A. P.; VIDAL C. M. P.; BEDRAN-RUSSO A. K. A Novel Enamel and Dentin Etching Protocol Using  $\alpha$ -hydroxy Glycolic Acid: Surface Property, Etching Pattern, and Bond Strength Studies. *Oper Dent*, v. 43, n. 1, p. 101-110, 2018.

COBANKARA F. K.; ERDOGAN H.; HAMURCU M. Effects of chelating agents on the mineral content of root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, v. 112, n. 6, p. 149-54, 2011.

COUCH I. H.; HOWARD P. C. Quantification of glycolic acid in cosmetic products using reversed phase high performance liquid chromatography. *Int J Cosmet Sci*, v. 24, n. 2, p. 89-95, 2002.

CRUZ-FILHO A. M.; SOUSA-NETO M. D.; SAQUY P. C.; PÉCOR A J. D. Evaluation of the effect of EDTAC, CDTA, and EGTA on radicular dentin microhardness. *J Endod*, v. 27, n. 3, p. 183-4, 2001.

CRUZ-FILHO A. M.; SOUSA-NETO M. D.; SAVIOLI R. N.; SILVA R. G.; VANSAN L. P.; PÉCOR A J. D. Effect of chelating solutions on the microhardness of root canal lumen dentin. *J Endod*, v. 37, n. 3, p. 358-62, 2011.

CZONSTKOWSKY M.; WILSON E. G.; HOLSTEIN F. A. The *smear layer* in endodontics. *Dent Clin North Am*, v. 34, n. 1, p. 13–25, 1990.

DAS A.; KOTTOOR J.; MATHEW J.; KUMAR S.; GEORGE S. Dentine microhardness changes following conventional and alternate irrigation regimens: an in vitro study. *J Conserv Dent*, v. 17, n. 6, p. 546–9, 2014.

DE-DEUS G.; PACIORNIK S.; MAURICIO M. H. P. Evaluation of the effect of EDTA, EDTAC and citric acid on the microhardness of root dentine. *Int Endod J*, v. 39, n. 5, p. 401–7, 2006.

DE-DEUS G.; SOUZA E. M.; MARINS J. R.; REIS C.; PACIORNIK S.; ZEHNDER M. *Smear layer* dissolution by peracetic acid of low concentration. *Int Endod J*, v. 44, n. 6, p. 85–90, 2011.

ELDENIZ A. U.; ERDEMIR A.; BELLI S. Effect of EDTA and citric acid solutions on the microhardness and the roughness of human root canal dentin. *J Endod*, v. 31, n. 2, p. 107–10, 2005.

ELIOT C.; HALTON J. F.; STEWART G. P.; HILDEBOLT C. F.; GILLESPIE M. J.; GUTMAN J. L. The effect of the irrigant QMix on removal of canal wall *smear layer*: an ex vivo study. *Odontology*, v. 102, n. 2, p. 232–240, 2014.

ELVERS B. Ullmann's Fine Chemicals. 1 ed. Germany: Wiley-VCH, 2014. 1360p.

FUENTES V.; TOLEDANO M.; OSORIO R.; *et al.* Microhardness of superficial and deep sound human dentin. *J Biomed Mater Res A*, v. 66, n. 4, p. 850–3, 2003.

FULLER J. L., HOHNSON W. W. Citric acid consumption and the human dentition. *J Am Dent Assoc*, v. 95, n. 1, p. 80–4, 1977.

FUNASAKA Y.; SATO H.; USUKI A.; OHASHI A.; KOTOYA H.; MIYAMOTO K.; HILLEBRAND G. G.; ICHIHASHI M. The efficacy of glycolic acid for treating wrinkles: analysis using newly developed

facial imaging systems equipped with fluorescent illumination. *J Dermatol Sci.* v. 27, n. 1, p. 53-9, 2001.

FURUKAWA F.; YAMAMOTO Y. Recent advances in chemical peeling in Japan. *J Dermatol*, v. 33, n. 10, p. 655-61, 2006.

GARBEROGLIO R.; BECCE C. *Smear layer* removal by root canal irrigants. A comparative scanning electron microscopic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, v. 78, n. 3, p. 359-67, 1994.

GONZÁLEZ-LÓPEZ S.; CAMEJO-AGUILAR D.; SANCHEZ SANCHEZ P.; BOLANOS-CARMONA V. Effect of CHX on the decalcifying effect of 10% citric acid, 20% citric acid or 17% EDTA. *J Endod*, v. 32, n. 8, p. 781-784, 2006.

GULABIVALA K.; PATEL B.; EVANS G.; *et al.* Effects of mechanical and chemical procedures on root canal surfaces. *Endod Topics*, v. 10, n. 1, p. 103-22, 2005.

HASHIM P. The effect of *Centella asiatica*, vitamins, glycolic acid and their mixtures preparations in stimulating collagen and fibronectin synthesis in cultured human skin fibroblast. *Pak J Pharm Sci*, v. 27, n. 2, p. 233-7, 2014.

HÜLSMANN M., RÜMMELIN C., SCHÄFERS F. Root canal cleanliness after preparation with different endodontic handpieces and hand instruments: a comparative SEM investigation. *J Endod*, v. 23, n. 5, p. 301-306, 1997.

HÜLSMANN M.; HECKENDORFF M.; LENNON A. Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use. *Int Endod*, v. 36, n. 12, p. 810-30, 2003.

KATO A. S.; CUNHA R. S.; DA SILVEIRA BUENO C. E.; PELEGRINE R. A.; FONTANA C. E.; DE MARTIN A. S. Investigation of the Efficacy of Passive Ultrasonic Irrigation Versus Irrigation with Reciprocating Activation: An Environmental Scanning Electron Microscopic Study. *J Endod*, v. 42, n. 4, p. 659-63, 2016.

KENNEDY W. A.; WALKER W. A.; GOUGH R. W. *Smear layer* removal effects on apical leakage. *J Endod*, v. 12, n. 1, p. 21–7, 1986.

LESTER K. S.; BOYDE A. Scanning electron microscopy of instrumented, irrigated and filled root canals. *Br Dent J*, v. 143, n. 11, p. 359–67, 1977.

LIANG, Y. H.; JIANG, L. M.; JIANG. L, *et al.* Radiographic healing after a root canal treatment performed in single-rooted teeth with and without ultrasonic activation of the irrigant: a randomized controlled trial. *J Endod*, v. 39, n. 10, p. 1218–25, 2013.

LOTTANTI S.; GAUTSCHI H.; SENER B.; ZEHNDER M. Effects of ethylenediaminetetraacetic, etidronic and peracetic acid irrigation on human root dentine and the *smear layer*. *Int Endod J*, v. 42, n. 4, p. 335–43, 2009.

LYSAGHT V. E.; DEBELLIS A. Microhardness testing. In *Hardness Testing Reprints*, WD-673, Bridgeport, Conn 1967, Wilson Instrument Division.

LUI J. N.; KUAH H. G.; CHEN N. N. Effect of EDTA with and without surfactants or ultrasonics on removal of *smear layer*. *J Endod*, v. 33, n. 4, p. 472–5, 2007.

MANCINI M.; ARMELLIN E.; CASAGLIA A.; CERRONI L.; CIANCONI L. A comparative study of *smear layer* removal and erosion in apical intraradicular dentine with three irrigating solutions: a scanning electron microscopy evaluation. *J Endod*, v. 35, n. 6, p. 900–3, 2009.

MANCINI M.; CERRONI L.; IORIO L.; ARMELLIN E.; CONTE G.; CIANCONI L. Smear layer removal and canal cleanliness using different irrigation systems (EndoActivator, EndoVac, and passive ultrasonic irrigation): field emission scanning electron microscopic evaluation in an in vitro study. *J Endod*, v. 39, n. 11, p. 1456–60, 2013.

MARCELINO A. P.; BRUNIERA J. F.; RACHED-JUNIOR F. A.; SILVA S. R.; MESSIAS D. C. Impact of chemical agents for surface

treatments on microhardness and flexural strength of root dentin. *Braz Oral Res*, v. 28, n. 1, 28, 2014.

MCCOMB D.; SMITH D. C.; A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J Endod*. v. 1, n. 7, p. 238-42, 1975.

MELLO I.; KAMMERER B.A.; YOSHIMOTO D. Influence of Final Rinse Technique on Ability of Ethylenediaminetetraacetic acid of removing smear layer. *J Endod*, v. 36, n. 3, p. 512-4, 2010.

MOON S. E.; PARK S.B.; AHN H. T.; YOUN J. I. The effect of glycolic acid on photoaged albino hairless mouse skin. *Dermatol Surg*, v. 25, n. 3, p. 179-82, 1999.

NIU W.; YOSHIOKA T.; KOBAYASHI C.; SUDA H. A scanning electron microscopic study of dentinal erosion by final irrigation with EDTA and NaOCl solutions. *Int Endod J*, v. 35, n. 11, p. 934-9, 2002.

NYGAARD-OSTBY B. Chelation in root canal therapy. *Odontologisk Tidskrift*, v. 65, n. 2, p. 3-11, 1957.

ORDINOLA-ZAPATA R.; BRAMANTE C. M.; VILLAS-BOAS M. H.; CAVENAGO B. C.; DUARTE M. H.; VERSIANI M. A. Morphologic micro-computed tomography analysis of mandibular premolars with three root canals. *J Endod*, v. 39, n. 9, p. 1130-5, 2013.

OKANO Y.; ABE Y.; MASAKI H.; *et al.* Biological effects of glycolic acid on dermal matrix metabolism mediated by dermal fibroblasts and epidermal keratinocytes. *Exp Dermatol*, v. 12, n. 2, p. 57-63, 2003.

PALAZZI F.; MORRA M.; MOHAMMADI Z.; *et al.* Comparison of the surface tension of 5.25% sodium hypochlorite solution with three new sodium hypochlorite-based endodontic irrigants. *Int Endod J*, v. 45, n. 2 p. 129-35, 2012.

PANIGHI M.; G'SELL C. Influence of calcium concentration on the dentine wettability by an adhesive. *J Biomed Mater Res*, v. 26, n. 8, p. 1081-9, 1992.

PAQUE F.; LUDER H.U.; SENER B.; ZEHNDER M. Tubular sclerosis rather than the *smear layer* impedes dye penetration into the dentine of endodontically instrumented root canals. *Int. Endod. J.*, v. 39, n. 1, p. 18–25, 2006.

PEETERS H. H.; SUARDITA K. Efficacy of *smear layer* removal at the root tip by using ethylenediaminetetraacetic acid and erbium, chromium:yttrium, scandium, gallium garnet laser. *J Endod*, v. 37, n. 11, p. 1585–9, 2011.

PERES-HEREDIA M.; FERRER-LUQUE C. M.; GONZALEZ-RODRIGUEZ M. P., MARTIN-PEINADO F. J.; GONZALEZ-LOPEZ S. Decalcifying effect of 15% EDTA, 15% citric acid, 5% phosphoric acid and 2,5% sodium hypochlorite on root canal dentine. *In Endod J.*, v. 41, n. 5, p. 418-23.

PIAS M. J. The effects of lemon juice (citric acid) on the surfaces of teeth. *Chronicle*, v. 35, n. 8, p. 217-8, 1972.

PRADO M.; GUSMAN H.; GOMES B. P.; SIMÃO R. A. Scanning electron microscopic investigation of the effectiveness of phosphoric acid in *smear layer* removal when compared with EDTA and citric acid. *J Endod*, v. 37, n. 2, p. 255-8, 2011.

QIAN W.; SHEN Y.; HAAPASALO M. Quantitative analysis of the effect of irrigant solution sequences on dentin erosion. *J Endod*, v. 37, n. 10, p. 1437-41, 2011.

ROTSTEIN I.; DANKNER E.; GOLDMAN A.; HELING I.; STABHOLZ A.; ZALKIND M. Histochemical analysis of dental hard tissues following bleaching. *J. Endod.* v. 22, n. 1, p. 23–26, 1996.

SAGHIRI M. A., DELVARANI A., MEHRVARZ FAR P., MALGANJI G., LOTFI M., DADRESANFAR B., *et al.* A study of the relation between erosion and microhardness of root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, v.108, n. 6, p. 29-34, 2009.

SAHA S. G.; SHARMA V.; BHARADWAJ A.; SHRIVASTAVA P.; SAHA M.K.; DUBEY S.; KALA S.; GUPTA S. Effectiveness of Various Endodontic Irrigants on the Micro-Hardness of the Root Canal

Dentin: An in vitro Study. *J Clin Diagn*, v. 11, n. 4, p. ZC01-ZC04, 2017.

SAITO K.; WEBB T. D.; IMAMURA G. M.; GOODELL G. G. Effect of Shortened Irrigation Times with 17% Ethylene diamine tetra-acetic acid on *smear layer* removal after rotary canal instrumentation. *J Endod*, v. 34, n. 8, p. 1011-4, 2008.

SALEH A. A.; ETTMAN W. M. Effect of endodontic irrigation solutions on microhardness of root canal dentine. *J Dent*, v. 27, n. 1, p. 43-6, 1999.

SAYIN T.C.; CEHRELI Z.C.; DENIZ D.; AKCAY A.; TUNCEI B.; GOZUKARA H. Time dependent decalcifying effect of endodontic irrigants with antibacterial properties. *J. Endod*, v. 35, n. 2, p. 280–283, 2009.

SEGURA J. J.; CALVO J. R.; GUERRERO J. M.; *et al.* The disodium salt of EDTA inhibits the binding of vasoactive intestinal peptide to macrophage membranes: endodontic implications. *J Endod*, v. 22, n. 7, p. 337-40, 1996.

SEN B. H.; WESSELINK P. R.; TÜRKÜN M. The *smear layer*: a phenomenon in root canal therapy. *Int Endod J*, v. 28, n. 3, p. 141-8, 1995.

SERPER A.; CALT S.; DOGAN A. L.; GUC D.; OZÇELIK B.; KURANER T. Comparison of the cytotoxic effects and *smear layer* removing capacity of oxidative potential water, NaOCl and EDTA. *J Oral Sci*, v. 45, n. 4, p. 233-8, 2001.

SHAHRAVAN A.; HAGHDOOST A. A.; ADL A.; RAHIMI H.; SHADIFAR F. Effect of *smear layer* on sealing ability of canal obturation: a systematic review and meta-analysis. *J Endod*, v. 33, n. 2, p. 96–105, 2007.

SHAHRIARI S.; KASRAEI S.; ROSHANA EI G.; KARKEABADI H.; DAVANLOO H. Efficacy of Sodium Hypochlorite Activated With Laser in Intracanal *Smear Layer* Removal: An SEM Study. *J Lasers Med Sci*, v. 8, n. 1, p. 36-41, 2017.

SILLANPÄÄ M. Environmental fate of EDTA and DTPA. *Rev Environ Contam Toxicol*, v. 152, p. 85-11, 1997.

SIMEZO A. P.; DA SILVEIRA BUENO C. E.; CUNHA R. S.; PELEGRINE R. A.; ROCHA D. G.; DE MARTIN A. S.; KATO A. S. Comparative Analysis of Dentinal Erosion after Passive Ultrasonic Irrigation versus Irrigation with Reciprocating Activation: An Environmental Scanning Electron Study. *J Endod*, v. 43, n. 1, 2017.

SOUSA S. M. G.; SILVA T. L. Demineralization effect of EDTA, EGTA, CDTA and citric acid on root dentin: a comparative study. *Braz Oral Res*, v. 19, n. 3, p. 188-92, 2005.

STOJICIC S.; SHEN Y.; QIAN W.; JOHNSON B.; HAAPASALO M. Antibacterial and *smear layer* removal ability of a novel irrigant, QMiX. *Int Endod J*, v. 45, n. 4, p. 363-71, 2012.

TANEJA S.; KUMARI M.; ANAND S. Effect of QMix, peracetic acid and ethylenediaminetetraacetic acid on calcium loss and microhardness of root dentine. *J Conserv Dent*, v. 17, n. 2, p. 155-8, 2014.

TARTARI T.; SOUZA P. A. R. S.; ALMEIDA B. V. N.; SILVA JUNIOR 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.

TEIXEIRA C. S.; FELIPPE M. C.; FELIPPE W. T. The effects of application time of EDTA and NaOCl on intracanal smear layer removal: an SEM analysis. *Int Endod J*, v. 38, n. 5, p. 285-90, 2005.

TORABINEJAD M.; HANDYSIDES R.; KHADEMI A. A.; BAKLAND L.K. Clinical implications of the *smear layer* in endodontics: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, v. 94, n. 6, p. 658-666, 2002.

TORABINEJAD M.; KHADEMI A. A.; BABAGOLI J.; *et al.* A new solution for the removal of the *smear layer*. *J Endod*, v. 29, n. 3, p. 170-5, 2003.



TURK T.; KAVAL M. E.; SARIKANAT M.; HÜLSMANN M. Effect of final irrigation procedures on fracture resistance of root filled teeth: an ex vivo study. *Int Endod J*, v, 50, n. 8, p. 799-804, 2017.

USUKI A.; OHASHI A.; SATO H.; *et al.* The inhibitory effect of glycolic acid and lactic acid on melanin synthesis in melanoma cells. *Exp Dermatol*, v. 12, n. 2, p. 43-50, 2003.

UZUNOGLU E.; AKTEMUR 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.* v. 38, n. 8, p. 1110-3, 2012.

UZUNOGLU E.; YILMAZ Z.; ERDOGAN O.; GÖRDUYSUS M. Final Irrigation Regimens Affect Fracture Resistance Values of Root-filled Teeth. *J Endod*, v. 42, n. 3, p. 493-5, 2016.

VASILIADIS L.; DARLING A. I.; LEVERS B. G. The amount and distribution of sclerotic human root dentine, *Arch Oral Biol*, v. 28, n. 7, p. 645-649, 1983.

VON DER FEHR F. R.; NYGAARD OSTBY B. Effect of EDTAC and sulfuric acid on root canal dentine. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, v. 16, p. 199-205, 1963.

WANG Z.; SHEN Y.; HAAPASALO M. Effect of *Smear Layer* against Disinfection Protocols on Enterococcus faecalis-infected Dentin. *JOE*, v. 39, n. 11, p. 1395-1400, 2013.

WAYMAN B. E.; KOPP W. M.; PINERO G. J.; LAZZARI E. P. Citric and lactic acids as root canal irrigants in vitro. *J Endod*, v. 4, n. 5, p. 258-65, 1979.

ZEHNDER M. Root canal irrigants. *J Endod*, v. 32, n. 5, p. 389-98, 2006.

ZANDI H.; RODRIGUES R. C.; KRISTOFFERSEN A. K.; ENERSEN M.; MDALA I.; ØRSTAVIK D.; RÔÇAS I. N.; SIQUEIRA J. F.; JR J. Antibacterial Effectiveness of 2 Root Canal Irrigants in Root-filled Teeth

with Infection: A Randomized Clinical Trial. *Endod*, v. 42, n. 8, p. 1307-13, 2016.

## **APÊNDICES**

## APÊNDICE 1 – Parecer consubstanciado do CEP

UNIVERSIDADE DE PASSO  
FUNDO/ PRÓ-REITORIA DE  
PESQUISA E PÓS-



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Estudo do Ácido Glicólico como agente quelante para condicionamento da dentina radicular

**Pesquisador:** DEBORA PEREIRA DINIZ CORREIA

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 66667117.7.0000.5342

**Instituição Proponente:** UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.080.284

#### Apresentação do Projeto:

Considerando o fato de que durante o tratamento endodôntico a smear layer deva ser removida e o EDTA possui efeitos deletérios, um agente alternativo para a remoção da smear layer é justificada, e a busca de material mais biocompatível para substituir EDTA ainda está em curso.

O ácido glicólico é um Alfa Hidroxiácidos (AHAs), de estrutura simples derivado da cana-de-açúcar (Brody 1997). Ele tem apenas dois carbonos em sua estrutura molecular e é hidrossolúvel, o que o torna mais difuso na fase intracelular. Por ter menor molécula, tem maior poder de penetração do que os outros AHAs, sendo mais rápida sua absorção no local de aplicação (Almeida 2007). O ácido glicólico pode ter um efeito direto sobre a pele, especialmente na produção de colágeno, o que foi confirmado no estudo de Hashim et al. (2014) em que o objetivo foi estimular a síntese de colágeno e fibronectina nas células de fibroblasto humanas cultivadas, onde concluíram que o ácido glicólico estimulou a síntese de colágeno em células de cultura de fibroblastos.

#### Objetivo da Pesquisa:

Avaliar o efeito do ácido glicólico sob a superfície dentária radicular.

**Endereço:** BR 285- Km 292 Campus I - Centro Administrativo  
**Bairro:** Divisão de Pesquisa / São José **CEP:** 99.052-900  
**UF:** RS **Município:** PASSO FUNDO  
**Telefone:** (54)3316-8157 **E-mail:** cep@upf.br

Continuação do Parecer: 2.080.284

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos não se aplicam nesta pesquisa, uma vez que serão empregados dentes do banco de dentes da UPF. Quanto aos benefícios, o estudo irá buscar um agente alternativo mais biocompatível para a remoção da smear layer.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Serão selecionados oitenta dentes humanos unirradiculares, onde quarenta serão submetidos à instrumentação rotatória de níquel titânio ProTaper Next (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça). A cada troca de instrumento será realizada uma irrigação com 2 mL de de NaOCl 2,5% em todas as raízes as mesmas serão divididas em diferentes grupos da seguinte forma: controle positivo: 2 mL de EDTA durante 1 min; controle negativo: 2 mL de soro fisiológico; GA 17% com pH 1,2; 2 mL de GA durante 1 min; GA 17% com pH 5: 2 mL de GA durante 1 min. Em todos os grupos, após a utilização da substância quelante será finalizado a irrigação com 5 mL de soro fisiológico. Após o preparo dos canais, as quarenta raízes serão clivadas no sentido longitudinal e analisados por microscopia eletrônica de varredura (MEV) para determinar a presença ou ausência da smear layer e avaliar a distribuição de conteúdo mineral da dentina radicular. Os demais quarenta dentes também serão divididos ao meio e de acordo com as mesmas substâncias citadas acima as amostras serão divididas em quatro grupos onde será determinado a microdureza da dentina do canal radicular. Os dados serão tabulados e submetidos à análise estatística.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Os direitos fundamentais dos participantes foram garantidos no projeto e no TCLE. O protocolo foi instruído e apresentado de maneira completa e adequada. Os compromissos do pesquisador e das instituições estavam presentes. O projeto foi considerado claro em seus aspectos científicos, metodológicos e éticos.

**Recomendações:**

Após o término da pesquisa, o CEP UPF solicita:

- a) A devolução dos resultados do estudo aos sujeitos da pesquisa ou a instituição que forneceu os dados;
- b) Enviar o relatório final da pesquisa, pela plataforma, utilizando a opção, no final da página, "Enviar Notificação" + relatório final

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Diante do exposto, este Comitê, de acordo com as atribuições definidas na Resolução n. 466/12,

**Endereço:** BR 285- Km 292 Campus I - Centro Administrativo  
**Bairro:** Divisão de Pesquisa / São José **CEP:** 99.052-900  
**UF:** RS **Município:** PASSO FUNDO  
**Telefone:** (54)3316-8157 **E-mail:** cep@upf.br

UNIVERSIDADE DE PASSO  
FUNDO/ PRÓ-REITORIA DE  
PESQUISA E PÓS-



Continuação do Parecer: 2.080.284

do Conselho Nacional da Saúde, Ministério da Saúde, Brasil, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa na forma como foi proposto

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_880053.pdf	11/05/2017 11:52:53		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetcronogramaalterado.doc	11/05/2017 11:52:34	DEBORA PEREIRA DINIZ CORREIA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	pesquisanaoiniciada.pdf	11/05/2017 11:52:02	DEBORA PEREIRA DINIZ CORREIA	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	declaracaoaocomitedeeticaempesquisa.pdf	05/04/2017 10:24:57	DEBORA PEREIRA DINIZ CORREIA	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostoparapesquisaenvolvendosereshumanos.pdf	26/03/2017 18:03:49	DEBORA PEREIRA DINIZ CORREIA	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	declaracao.pdf	10/03/2017 22:58:39	DEBORA PEREIRA DINIZ CORREIA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	termodeconsentimentolivre.pdf	10/03/2017 22:57:40	DEBORA PEREIRA DINIZ CORREIA	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

PASSO FUNDO, 24 de Maio de 2017

Assinado por:  
Felipe Cittolin Abal  
(Coordenador)

Endereço: BR 285- Km 292 Campus I - Centro Administrativo  
Bairro: Divisão de Pesquisa / São José CEP: 99.052-900  
UF: RS Município: PASSO FUNDO  
Telefone: (54)3316-8157 E-mail: cep@upf.br

Página 03 de 04

UNIVERSIDADE DE PASSO  
FUNDO/ PRÓ-REITORIA DE  
PESQUISA E PÓS-



Continuação do Parecer: 2.080.284

**Endereço:** BR 285- Km 292 Campus I - Centro Administrativo  
**Bairro:** Divisão de Pesquisa / São José **CEP:** 99.052-900  
**UF:** RS **Município:** PASSO FUNDO  
**Telefone:** (54)3316-8157 **E-mail:** cep@upf.br

Página 04 de 04

## ARTIGO A SER SUBMETIDO

Journal of Endodontics

---

### ANÁLISE DO ÁCIDO GLICÓLICO COM SOLUÇÕES PARA REMOÇÃO DA *SMEAR* *LAYER* DE CANAIS RADICULARES<sup>2</sup>

#### Resumo

**Introdução:** O objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade de remoção da smear layer e os efeitos do Ácido Glicólico (AG) sob a superfície dentinária radicular.

**Métodos:** Vinte dentes unirradicular foram seccionados longitudinalmente ao meio e os quarenta segmentos foram divididos aleatoriamente em quatro grupos da seguinte forma: controle negativo, soro fisiológico; EDTA 17%; AG 17% com pH 1,2; e, AG 17% com pH 5. Dois mL de 2,5% NaOCl foi aplicado inicialmente em todas as amostras durante 1 minuto, seguido por 5 ml de irrigação de soro

---

<sup>2</sup> Débora Pereira Diniz Correia



fisiológico, logo após 2 ml da solução testada agiu durante 1 minuto e por fim 5 ml de irrigação de soro fisiológico a fim de avaliar a microdureza dentinária. Outros quarenta dentes humanos unirradiculares foram submetidos à instrumentação rotatória com Hipoclorito de Sódio (NaOCl) e logo após divididos aleatoriamente em 4 grupos da mesma forma que o teste anterior. As raízes foram clivadas no sentido longitudinal e analisadas por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV) para determinar a presença ou ausência da smear layer, a erosão dentinária radicular e a distribuição de conteúdo mineral. **Resultado:** Os grupos que receberam o EDTA e o AG em ambos os pHs obtiveram valores de microdureza menores que o grupo controle ( $P < 0,05$ ) e foram estatisticamente semelhantes entre si ( $P > 0,05$ ). Em relação à remoção da smear layer, o EDTA e o AG com ambos os pHs não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si ( $P > 0,05$ ). Avaliando a erosão dentinária, nos terços

cervical e médio o soro apresentou menos erosão que os demais grupos e no terço apical, é estatisticamente semelhante ao AG com pH 5. As substâncias testadas não alteraram a composição química da dentina quando comparado o G1. **Conclusão:** Foi possível concluir que o AG com ambos os pHs possui a mesma capacidade de remoção da smear layer e efeitos semelhantes ao EDTA sob a superfície dentinária radicular.

**Palavras- chave:** camada de esfregaço, erosão dentária, dureza, EDTA, ácido glicólico.

### **Introdução**

O principal objetivo do preparo de canais radiculares é a limpeza e desinfecção utilizando instrumentos endodônticos e substâncias químicas auxiliares (Zandi et al., 2016). Durante esta etapa uma camada amorfa denominada smear layer é formada pela ação de instrumentos

endodônticos e depositada nas paredes do canal radicular (McComb et al., 1975). A smear layer pode dificultar a penetração de desinfetantes intracanaís e cimentos nos túbulos dentinários (Kennedy et al., 1986). Por isso, diferentes soluções tem sido sugeridas para remover a smear layer (Prado et al., 2011), sendo que o ácido etilendiaminotetracético (EDTA) é a solução mais utilizada para esta finalidade (Serper et al., 2001; Taneja et al., 2014).

No entanto, o EDTA por possuir um forte efeito desmineralizante faz com que algumas propriedades da dentina sejam afetadas como o alargamento dos túbulos dentinários, amolecimento da dentina, desnaturação das fibras colágenas (Garberoglio & Becce 1994) e erosão dentinária peritubular e intertubular quando usado por um longo tempo (Calt & Serper 2002). A resistência à fratura de raízes tratadas endodonticamente também é influenciada negativamente (Uzunoglu et al., 2012), bem como a extrusão

de EDTA além do forame apical deve ser evitada devido a sua citotoxicidade (Amaral et al., 2007). Além disso, outro fator importante a ser considerado é que ele é sintetizado em escala industrial a partir de etilenodiamina, formaldeído e cianeto de sódio (Elvers 2014). Este método resulta na formação de impurezas que são consideradas alguns dos principais poluentes orgânicos descartados na água (Sillanpää, 1997). Dessa forma, o EDTA contribui para a toxicidade aquática resultando efeitos crônicos, incluindo o possível desequilíbrio de cálcio corporal em animais e outros organismos (Elvers, 2014).

Por sua vez, o ácido glicólico (GA) é um Alfa Hidroxiácidos (AHAs) de estrutura simples derivado da cana-de-açúcar e outros vegetais doces (Brody 1997). O GA é incolor, inodoro, tem apenas dois carbonos em sua estrutura molecular, é hidrossolúvel, o que o torna mais difuso na fase intracelular. Por ter menor molécula, tem

maior poder de penetração do que os outros AHAs, sendo mais rápida sua absorção no local de aplicação (Almeida 2007). O GA é amplamente utilizado em dermatologia para promover a descamação química da pele. Ele possui um efeito direto sobre a pele, especialmente na produção de colágeno (Hashim et al. 2014). Além de estudos in vivo e in vitro demonstrar aumento da proliferação de fibroblastos. (Stojicic et al., 2012). O GA foi classificado como um adequado ácido para o condicionamento de esmalte e dentina para procedimentos restauradores (Cecchin et al. 2018). Por suas propriedades o GA possui um atraente potencial como solução capaz de remover a smear layer da parede de canais radiculares.

## **Materiais e Métodos**

### **Design experimental**

Uma nova substância para remoção da smear layer dentinária foi testada em duas formas: pH 1,2 e pH 5. O EDTA 17% foi utilizado como um controle positivo, uma vez que é a substâncias tradicionalmente utilizada para remoção da smear layer das paredes do canal radicular O teste de microdureza dentinária foi utilizado para determinar o potencial de desmineralização do AG e EDTA. A capacidade das mesmas substâncias em remover smear layer das paredes do canal radicular e causar erosão dentinária foi avaliado por meio da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A análise dos componentes dentinários também foi feita por meio do MEV.

### **Microdureza dentinária**

Vinte dentes humanos unirradiculares tiveram suas coroas removidas e foram então seccionadas longitudinalmente em Cortadora Metalografica (Isomet 2000; Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, USA) originando

segmentos vestibular e lingual, totalizando quarenta segmentos com 15mm de comprimento. Os segmentos de raiz foram, horizontalmente incluídos em resina acrílica autopolimerizável (Jet, Art. Clássico, São Paulo, SP), deixando a dentina exposta. Em seguida, as superfícies de dentina foram planificadas com lixas abrasivas (500, 800, 1000, e 1200 de granulação) em água destilada e polidas com suspensão de 0,1 mm de alumina, sobre um disco giratório de feltro.

Os quarenta segmentos foram divididos aleatoriamente em quatro grupos e a dentina foi tratada da seguinte forma: controle negativo, soro fisiológico; EDTA 17%; AG 17% com pH 1,2; e, AG 17% com pH 5. Dois mL de 2,5% NaOCl foi aplicado inicialmente em todas as amostras durante 1 minuto, seguido por 5 ml de irrigação de soro fisiológico, logo após 2 ml da solução testada, como descrito acima, agiu durante 1 minuto e por fim 5 ml de

irrigação de soro fisiológico.

A microdureza da dentina foi medida com um indentador de Knoop com 40x de ampliação (Shimadzu HMV-2000; Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) sob uma carga de 25g e um tempo de permanência de 15 segundos. Em cada amostra, foram feitas três identificações ao longo de linhas paralelas à borda da luz do canal radicular. A primeira identificação foi feita a 1.000  $\mu\text{m}$  da entrada do canal radicular, e as outras duas identificações foram feitas a uma distância de 200  $\mu\text{m}$  uma da outra (Cruz-Filho et al., 2011). O comprimento médio das duas diagonais foi utilizado para calcular o valor de microdureza (dureza do número Knoop [KHN]). O valor de dureza representativo para cada espécime foi obtido como a média dos resultados para as três identificações.

Para avaliar a microdureza dentinária foi realizado ANOVA de um fator e teste de comparação de Tukey



( $\alpha=0,05$ ).

### **Preparo das amostras para a Microscopia Eletrônica por Varredura (MEV)**

As coroas dos outros quarenta dentes humanos foram removidas de forma semelhante ao teste anterior. Sulcos longitudinais foram então criados nas superfícies vestibular e lingual de cada raiz usando um disco de diamante dupla face (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil) em baixa velocidade. O comprimento de trabalho foi estabelecido por meio da inserção de uma lima tipo K calibre 10 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) no forame apical.

O preparo químico-mecânico foi realizado utilizando instrumentos rotatórios de níquel titânio ProTaper Next (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) de acordo com as recomendações do fabricante. A sequência de limas utilizadas foram X1, X2 e X3 até o comprimento de trabalho ser alcançado a uma velocidade de 300 rotações por minuto

e torque de 2 new. A cada instrumento os canais foram irrigados com 2 mL de NaOCl 2,5%. Logo após, as quarenta raízes foram aleatoriamente divididas em 4 grupos utilizado 2 mL das soluções experimentais citadas anteriormente ao teste de microdureza. Foi de forma similar em todos os grupos, como segue: as soluções foram introduzidas no canal usando agulhas de aço inoxidável calibre 29 (NaviTip Tips, Ultradent Products Inc., South Jordan, UT, EUA) inserida até 3 mm aquém do comprimento de trabalho. Após a utilização da substância irrigadora foi finalizado a irrigação com 5 mL de soro fisiológico. Após a utilização dos protocolos de irrigação os canais radiculares foram secos com cones de papel esterilizados (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Suíça).

**MEV: avaliação da capacidade de remoção da smear layer e erosão dentinárias**

Após, as quarenta raízes foram então divididas em duas metades, utilizando uma lâmina de micrótomo e um martelo, totalizando oitenta metades.

Os espécimes foram desidratados utilizando concentrações crescentes de etanol (25% por 20 minutos, 50% por 20 minutos, 75% por 20 minutos, 95% por 30 minutos e 100% por 60 minutos) e examinadas em MEV (Shimadzu, SSX-550A, Tóquio, Japão).

As imagens foram obtidas para observar a morfologia da superfície da parede do canal em 500x de ampliação e 20 kV ao longo do terço coronal (10-12 mm do ápice), médio (6-7 mm do ápice) e apical (1-2 mm de ápice) de cada espécime (Ballal et al., 2016). Estas áreas foram avaliadas por dois avaliadores cegos independentes para analisar a presença ou ausência da camada smear layer designando os scores de cada grupo

As imagens foram classificadas de acordo com os

critérios descritos por Hülsmann et al. (1997): Score 1: sem smear layer, túbulos dentinários abertos. Score 2: pequena quantidade de smear layer, a maioria dos túbulos dentinários abertos. Score 3: smear layer homogênea cobrindo a parede do canal radicular, apenas alguns túbulos dentinários abertos. Score 4: parede completa do canal radicular coberta por smear layer homogênea, sem túbulo dentinário aberto. Score 5: smear layer não-homogênea pesada cobrindo a totalidade dos túbulos dentários (Figura 1).

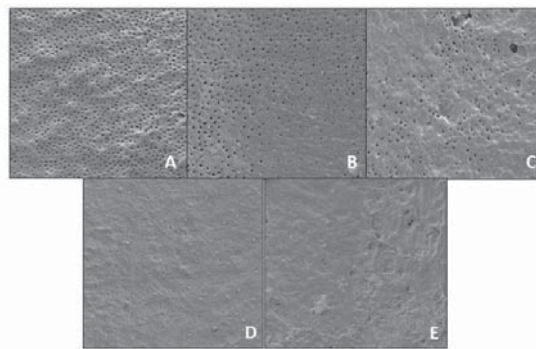


Figura 1. Scores para determinar a presença ou ausência da camada smear layer (A) Score 1: sem *smear layer*, túbulos dentinários abertos. (B) Score 2: pequena quantidade de *smear layer*, alguns túbulos dentinários abertos. (C) Score 3: *smear layer* homogênea cobrindo a parede do canal radicular, apenas alguns túbulos dentinários abertos. (D) Score 4: parede completa do canal radicular coberta por *smear layer* homogênea, sem túbulo dentinário aberto. (E) Score 5: *smear layer* não-homogênea pesada cobrindo a totalidade dos túbulos dentários.

Foi realizado Kruskal-Wallis e teste de comparação de Dunn ( $\alpha=0,05$ ) para avaliar a capacidade de remoção da smear layer nos terços cervical, médio e apical dos diferentes grupos experimentais.

As mesmas imagens foram analisadas por dois avaliadores cegos independentes a fim de verificar a erosão dentinária radicular. As imagens foram classificadas de acordo com os critérios descritos por Torabinejad et al., (2003): score 0, smear layer cobrindo quase toda a superfície dentinária, com poucos ou nenhum túbulo aberto; score 1, sem erosão: todos os túbulos visivelmente normais em aparência e tamanho; score 2, erosão moderada: a dentina peritubular corroída; score 3, erosão severa, a dentina intertubular destruída e os túbulos conectados entre si (Figuras 2 e 3).

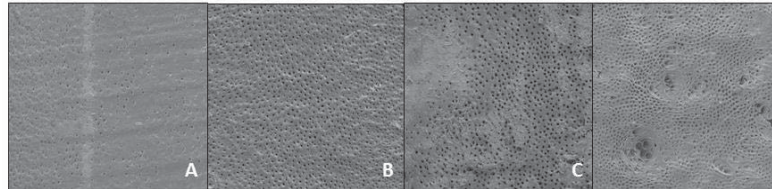


Figura 2. Scores para determinar a presença ou ausência de erosão dentinária. (A) Score 0: *smear layer* cobrindo quase toda a superfície dentinária, com poucos ou nenhum túbulo aberto; (B) Score 1: sem erosão: todos os túbulos visivelmente normais em aparência e tamanho; (C) Score 2: erosão moderada: a dentina peritubular corroída; (D) Score 3: erosão severa: a dentina intertubular destruída e os túbulos conectados entre si.

As soluções testadas causaram erosão sob a superfície dentinária (Figura 10) e para avaliar os escores de erosão nos terços cervical, médio e apical dos grupos experimentais, foi realizado Kruskal-Wallis e teste de comparação de Dunn ( $\alpha=0,05$ ).

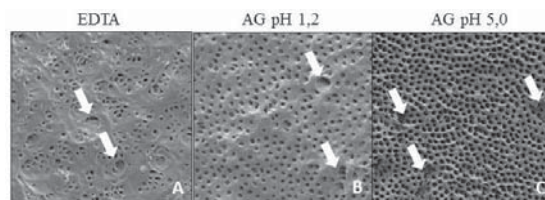


Figura 3. Erosão causada pelas soluções testadas. (A) Erosão Score 2, com dentina peritubular destruída, causada pelo EDTA. (B) Estrutura tratada com AG pH 1,2, apresentando algumas regiões já com erosão Score 3, túbulos conectados entre si. (C) Dentina intertubular já destruída, Score 3 correspondente ao grupo em que foi testado AG pH 5,0.

### **Avaliação do conteúdo mineral / Dispersão de Energia X-Ray Spectroscopy (EDS)**

As mesmas amostras preparadas no teste anterior foram utilizadas, onde toda a área da matriz dentinária foi visualizada sob MEV com uma ampliação normalizado de 200x (650 x 420 um) foi analisada por EDS para determinar a percentagem atômica (at.%) de cálcio (Ca), fósforo (P), sódio (Na), cloro (Cl), magnésio (Mg).

### **Resultados**

#### **Avaliação de microdureza**

Os valores de microdureza de Knoop (média e seus respectivos desvios-padrão) para os agentes em estudo estão dispostos na Tabela 1. Foi encontrada diferença significativa entre os grupos experimentais ( $p < 0,001$ ). O maior valor de microdureza foi obtido pelo grupo controle irrigado com soro. Os grupos que receberam o EDTA e o AG em ambos

os pHs obtiveram valores de microdureza menores que o grupo controle e foram estatisticamente semelhantes entre si.

Tabela 1. Valores de média de microdureza e desvio-padrão para os grupos experimentais.

GRUPOS EXPERIMENTAIS	Média	DP	Teste de Tukey
Soro	40,3	3,7	A
NaOCl + EDTA	21,2	4,5	B
NaOCl+ AG pH 1,2	24,0	2,5	B
NaOCl+ AG pH 5	25,1	3,7	B

NaOCl, hipoclorito de sódio; EDTA, ácido etilendiaminotetracético; AG, ácido glicólico. Medias seguidas de letras diferentes na coluna são estatisticamente diferentes ( $p < 0,001$ ).

### **Avaliação da remoção de smear layer**

O coeficiente de teste Kappa indicou uma alta concordância entre os examinadores sobre a interpretação dos escores em relação à remoção de smear layer (Kappa = 0,917). Os scores da smear layer (%) após o uso das diferentes soluções ao longo dos vários terços das paredes do canal está resumida na Figura 4.



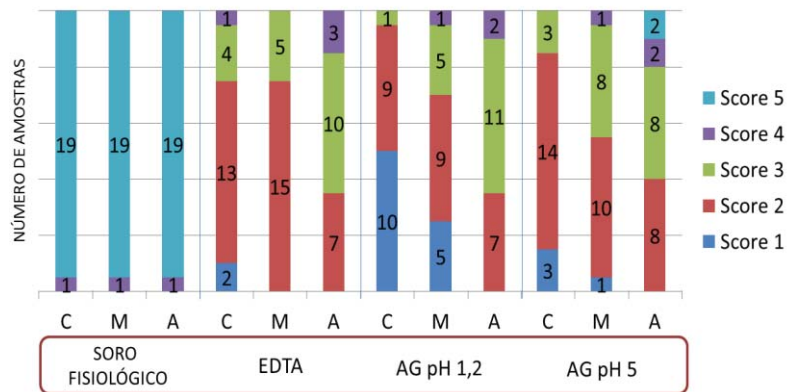


Figura 4. Porcentagem de remoção de *smear layer* entre os fatores de teste no terceiro coronal, terço médio e terço apical do sistema de canal radicular.

Foi encontrada diferença significativa entre os grupos experimentais ( $p < 0,001$ ), independente do terço avaliado, sendo que o irrigado com soro apresentou predominância do score 5 (Figura 4 e Tabela 2), ou seja, não apresentou capacidade de remoção de smear layer.

Tabela 2. Valores de mediana (Md), primeiro (Q1) e terceiro quartil (Q3) dos escores de remoção de *smear layer* para os grupos experimentais.

GRUPOS EXPERIMENTAIS	CERVICAL			MÉDIO			APICAL		
	Md	Q <sub>1</sub>	Q <sub>3</sub>	Md	Q <sub>1</sub>	Q <sub>3</sub>	Md	Q <sub>1</sub>	Q <sub>3</sub>
Soro	5,0 <sup>aA</sup>	5,0	5,0	5,0 <sup>aA</sup>	5,0	5,0	5,0 <sup>aA</sup>	5,0	5,0
NaOCl + EDTA	2,0 <sup>bB</sup>	2,0	2,5	2,0 <sup>bAB</sup>	2,0	2,5	3,0 <sup>aA</sup>	2,0	3,0
NaOCl+ AG pH 1,2	1,5 <sup>bB</sup>	1,0	2,0	2,0 <sup>bAB</sup>	1,5	3,0	3,0 <sup>aA</sup>	2,0	3,0
NaOCl+ AG pH 5	2,0 <sup>bB</sup>	2,0	2,0	2,0 <sup>bAB</sup>	2,0	3,0	3,0 <sup>aA</sup>	2,0	3,0

\*medianas seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna são estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

\*medianas seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma linha são estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

Avaliando os grupos G2, G3 e G4 separadamente, foi observada semelhança estatística entre os escores obtidos no terço cervical e médio, e diferença estatística no terço cervical e apical ( $p < 0,05$ ), sendo maior o escore no terço apical, mostrando a dificuldade de se obter uma adequada limpeza no terço apical. Avaliando os grupos G2, G3 e G4 entre si, foi observado que não houve diferença estatística analisado cada terço individualmente. A Figura 5 ilustra o comportamento de cada grupo em estudo.

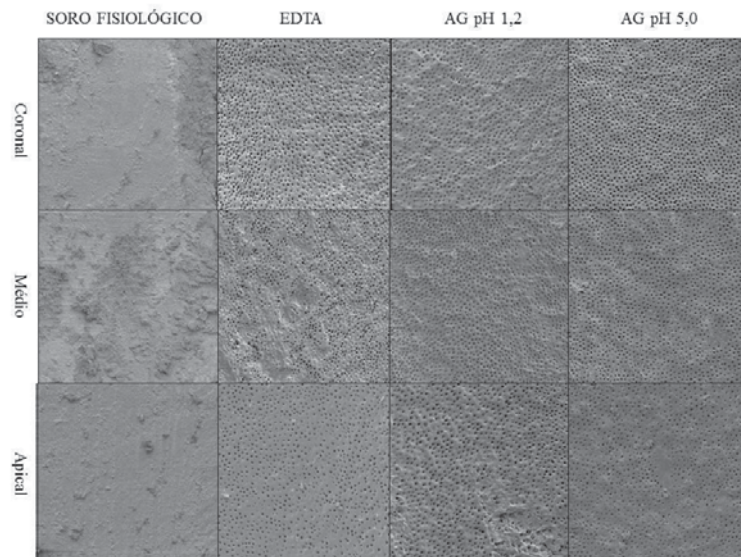


Figura 5. Imagens microscópicas eletrônicas de varredura dos grupos e os terços radiculares estudados.

### **Avaliação de erosão**

O coeficiente de teste Kappa indicou uma alta concordância entre os examinadores sobre a interpretação dos escores de erosão (Kappa = 0,876). A distribuição de erosão (em porcentagem (%)) ao longo dos vários terços das paredes do canal radicular estão resumidas na Figura 6.

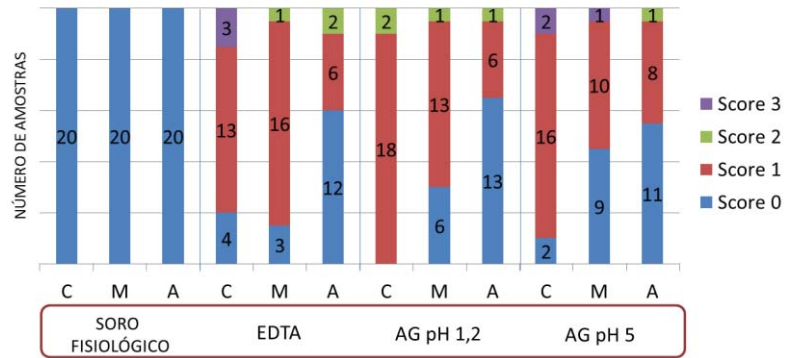


Figura 6. Análise estatística sobre o Grau de Erosão.

Os resultados de erosão estão resumidos na Tabela 3. O G1 não conseguiu remover a smear layer, e os túbulos dentinários pareciam obliterados. O G4 apresentou resultados estatisticamente semelhantes ao G2 e G3 no terço cervical e médio, porém no terço apical não foi possível detectar erosão dentinária devido presença de smear layer.

Tabela 3. Análise estatística sobre o Grau de Erosão. Valores de mediana (Md), primeiro (Q1) e terceiro quartil (Q3) dos escores de erosão para os grupos experimentais.

GRUPOS EXPERIMENTAIS	CERVICAL			MÉDIO			APICAL		
	Md	Q <sub>1</sub>	Q <sub>3</sub>	Md	Q <sub>1</sub>	Q <sub>3</sub>	Md	Q <sub>1</sub>	Q <sub>3</sub>
Soro	0,0 <sup>bA</sup>	0,0	0,0	0,0 <sup>bA</sup>	0,0	0,0	0,0 <sup>bA</sup>	0,0	0,0
NaOCl+ EDTA	1,0 <sup>aA</sup>	0,5	1,0	1,0 <sup>aA</sup>	1,0	1,0	0,5 <sup>aA</sup>	0,0	1,0
NaOCl+ AG pH 1,2	1,0 <sup>aA</sup>	1,0	1,0	1,0 <sup>aAB</sup>	0,0	1,0	0,5 <sup>aB</sup>	0,0	1,0
NaOCl+ AG pH 5	1,0 <sup>aA</sup>	1,0	1,0	1,0 <sup>aAB</sup>	0,0	1,0	0,0 <sup>abB</sup>	0,0	1,0

\*medianas seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna são estatisticamente diferentes (p<0,05).

\*medianas seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma linha são estatisticamente diferentes s (p<0,05).

### Avaliação do conteúdo mineral

A percentagem atômica (at.%) de cálcio (Ca), fósforo (P), sódio (Na), cloro (Cl), magnésio (Mg) após o uso dos agentes quelantes ao longo dos vários terços das paredes do canal são resumidas coletivamente na Figura 7. De acordo com os resultados obtidos pela análise em EDS, não houve mudanças na composição química da dentina quando comparado o grupo controle com as demais soluções, mantendo assim Ca, P, Na, Cl, Mg estáveis.

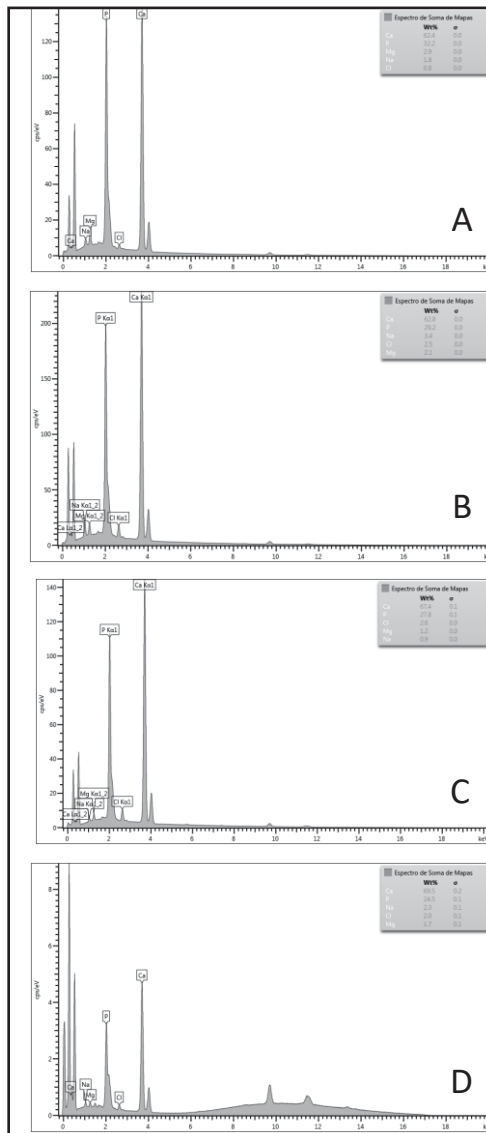


Figura 7. Percentagem atômica (at.%) de cálcio (Ca), fósforo (P), sódio (Na), cloro (Cl), magnésio (Mg). (A) Soro fisiológico. (B) NaOCl + EDTA. (C) NaOCl + AG pH 1,2. (D) NaOCl + AG pH 5.

## **Discussão**

O EDTA é uma substância eficiente na redução da microdureza dentinária devido sua ação quelante. A hipótese nula específica de que a microdureza da dentina tratada com o AG em ambos os pH seria menor do que a microdureza da dentina tratada com o EDTA foi rejeitada, uma vez que os valores de microdureza da dentina tratada com AG, em ambas as concentrações, foi semelhante aos valores de microdureza da dentina tratada com EDTA. No entanto, se comparado com o grupo controle, ambas as soluções promoveram redução nos valores de microdureza. Estes resultados estão de acordo com estudos anteriores, (Taneja et al., 2014; Das et al., 2014) em que soluções ativas também reduziram a microdureza dentinária.

O efeito de redução de microdureza, por um lado, é desejável na camada ao lado do lúmen do canal (Taneja et al., 2014). O uso de agentes quelantes para irrigação final

remove a camada smear layer e reduz a microdureza dentinária, o que facilita a ação dos instrumentos endodônticos nas paredes do canal radicular (Cruz-Filho et al., 2011). Foi sugerido que, embora as substâncias químicas possam reduzir a dureza dos dentes, essa alteração na dureza não interfere na resistência do substrato (Marcelino et al., 2014). Em contraste, Uzunoglu et al., (2012) mostraram que a resistência à fratura das raízes tratadas endodonticamente foi afetada de forma diferente pelas várias concentrações de EDTA.

No presente estudo, ao analisarmos a ação dos irrigantes na remoção da smear layer no terço coronal e médio, ambos removeram a smear layer igualmente. Rejeitando a hipótese nula específica testada, uma vez que o AG apresentou características que possibilitam sua utilização como agente capaz de remover a smear layer de canais radiculares. No estudo de Ballal et al. (2016), o



EDTA 17%, também apresentou eficácia similar ao nosso estudo em remover a camada de smear layer. O EDTA possui a ação Interferindo na composição orgânica e inorgânica do tecido com consequente alteração de permeabilidade, solubilidade e microdureza dentinária. Além de descalcificar a dentina a uma profundidade de 20 a 30  $\mu\text{m}$  em 5 minutos (De-Deus et al., 2006). Por essa ação quelante e pela reação por meio da força eletrostática o EDTA pode ser considerado um efetivo agente quelante.

O AG com pH 1,2 e pH 5,0 foram estatisticamente semelhantes ao EDTA 17% com relação a remoção da smear layer nos terços coronal e médio (Figura 5). Cecchin et al., (2018) observaram que o AG possui a mesma capacidade de condicionamento de esmalte e dentina que o ácido fosfórico concordando com os achados deste estudo.

Uma vez que o ácido cítrico é AHA assim como o ácido glicólico, podemos concluir que os mesmos possuem

semelhante mecanismo de ação sobre a superfície dentinária. O ácido cítrico apresenta uma capacidade de extrair íons de cálcio da dentina, sendo capaz de remover o componente inorgânico da smear layer e descalcificar a dentina (Fuller et al., 1977). Com base em nossos resultados, o AG, extrai íons de cálcio da dentina, assim como o EDTA e o ácido cítrico removendo componentes inorgânicos da smear layer e desmineralizando a dentina (Perez-Heredia et al., 2008).

Neste estudo verificou-se que todas as substâncias experimentais estudadas possuem menos eficácia na remoção da smear layer no terço apical do canal radicular quando comparado aos terços cervical e médio, como em estudos anteriores que também avaliaram a remoção da smear layer (Baumgartner et al., 1987; Torabinejad et al., 2013; Eliot et al., 2014). O largo diâmetro do canal nos terços cervical e médio torna a dentina dessa região exposta à um maior volume da solução irrigante, permitindo seu

melhor fluxo e conseqüentemente tornando a região mais acessível aos procedimentos de limpeza, diferente do terço apical (Wayman et al., 1979; Torabineja et al.,2003). Além de já ter sido concluído que a irrigação por seringa não é uma técnica eficiente no terço apical (Peeters et al., 2011).

Na presente investigação, os grupos EDTA, AG pH 1,2 e AG pH 5 foram eficazes na remoção da camada de esfregaço e na abertura dos túbulos dentinários (Figura 3). No entanto, esses protocolos causaram erosão em túbulos dentinários principalmente no terço coronal e médio; já no terço apical, a presença de smear layer impossibilitou a avaliação da erosão.

Qian et al., (2011) sugerem que a erosão da dentina pode contribuir para fratura de raiz vertical. No entanto, a erosão não é a principal causa de redução da dureza da dentina, pois a profundidade da penetração do irrigante pode ser o fator-chave (Cobankara, et al. 2011).

Os resultados da avaliação dos componentes dentinários detectáveis pela MEV demonstraram que todos os componentes analisados (Ca, P, Na, C e Mg) mantiveram-se estáveis em todos os grupos experimentais quando comparados com o grupo irrigado com soro fisiológico. Esses resultados ajudam a rejeitar a hipótese nula específica. Isso pode ser atribuído a desmineralização menos agressiva do EDTA e AG em diferentes pHs, suficiente para não causar a remoção dos minerais, concordando com o estudo de Ballal et al. (2016). A alteração do conteúdo mineral pode estar associada ao efeito de desmineralização aumentada (Eliot et al., 2014).

### **Conclusão**

Em conclusão, o presente estudo demonstra que AG 17% com pH 1,2 e AG 17% com pH 5,0 resultaram em similaridade na redução da microdureza, na remoção de smear layer e não alteraram os minerais da estrutura

dentária, quando comparados com o EDTA. Esses resultados rejeitam a hipótese nula geral deste estudo. Dessa forma, o AG pode ser uma boa opção para ser utilizado como irrigante final durante o preparo de canais radicular..

## Referências

1. Almeida E F. Utilização do Ácido Glicólico nas Alterações Estéticas. *Rev. Personalité* 2007;11: 124-135.
2. Amaral K F, Rogero M M, Fock R A, et al. Cytotoxicity analysis of EDTA and citric acid applied on murine resident macrophages culture. *Int Endod J* 2007; 40:338-43.
3. Ballal N V, Jain I, Tay F R. Evaluation of the smear layer removal and decalcification effect of QMix, maleic acid and EDTA on root canal dentine. *Dent* 2016; 51: 62-8.
4. Baumgartner J C, Mader C L. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. *J Endod* 1987;13:147-57.

5. Brody, H. J. Chemical Peeling and Resurfacing. 2. ed. St. Louis, MO: 1997.
6. Calt S, Serper A. Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. J Endod, 2002;28:17-9.
7. Cecchin C, Farina A P, Vidal C M P, Bedran-Russo A K. A Novel Enamel and Dentin Etching Protocol Using  $\alpha$ -hydroxy Glycolic Acid: Surface Property, Etching Pattern, and Bond Strength Studies. Oper Dent2018; 43: 101-110.
8. Cruz-Filho A M, Sousa-Neto M D, Savioli R N, Silva R G, Vansan L P, Pécora J D. Effect of chelating solutions on the microhardness of root canal lumen dentin. J Endod 2011; 37:358-62.
9. Cruz-Filho A M, Sousa-Neto M D, Savioli R. N, Silva R. G, Vansan L. P, Pécora J. D. Effect of

chelating solutions on the microhardness of root canal lumen dentin. *J Endod* 2011;37:358-62.

10. Das A, Kottoor J, Mathew J, Kumar S, George S. Dentine microhardness changes following conventional and alternate irrigation regimens: an in vitro study. *J Conserv Dent* 2014;17: 546-9.
11. Eliot C, Halton J F, Stewart G P, Hildebolt C F, Gillespie M J, Gutman J L. The effect of the irrigant QMix on removal of canal wall smear layer: an ex vivo study. *Odontology* 2014;102:232–240.
12. Elvers B. Ullmann's Fine Chemicals. 1 ed. Germany: Wiley-VCH, 2014:1360.
13. Fuller J L, Hohnson W W. Citric acid consumption and the human dentition. *J Am Dent Assoc* 1977;95: 80-4.



14. Garberoglio R, Becce C. Smear layer removal by root canal irrigants. A comparative scanning electron microscopic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*1994;78:359-67
15. Hashim P. The effect of *Centella asiatica*, vitamins, glycolic acid and their mixtures preparations in stimulating collagen and fibronectin synthesis in cultured human skin fibroblast. *Pak J Pharm Sci* 2014;27:233-7.
16. Hülsmann M, Rummelin C, Schäfers F. Root canal cleanliness after preparation with different endodontic handpieces and hand instruments: a comparative SEM investigation. *J Endod* 1997;23:301-306.

17. Kennedy W A, Walker W A, Gough R W. Smear layer removal effects on apical leakage. *J Endod* 1986;12: 21–7.
18. Marcelino A P, Bruniera J F, Rached-Junior F A, Silva S R, Messias D. C. Impact of chemical agents for surface treatments on microhardness and flexural strength of root dentin. *Braz Oral Res*2014;28:1-8.
19. McComb D, Smith D C. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J Endod* 1975;1:238-42
20. Peeters H H, Suardita K. Efficacy of smear layer removal at the root tip by using ethylenediaminetetraacetic acid and erbium, chromium:yttrium, scandium, gallium garnet laser. *J Endod* 2011; 37:1585–9.

21. Peres-Heredia M, Ferrer-Luque C M, Gonzalez-Rodriguez M P; Martin-Peinado F J, Gonzalez-Lopez S. Decalcifying effect of 15% EDTA, 15% citric acid, 5% phosphoric acid and 2,5% sodium hypochlorite on root canal dentine. In Endod J 2008;41:418-23.
22. Prado M, Gusman H, Gomes B P, Simão R A. Scanning electron microscopic investigation of the effectiveness of phosphoric acid in smear layer removal when compared with EDTA and citric acid. J Endod 201;37:255-8;
23. Qian W, Shen Y, Haapasalo M. Quantitative analysis of the effect of irrigant solution sequences on dentin erosion. J Endod 2011;37:1437-41.
24. Serper A, Calt S, Dogan A L, Guc D, Ozçelik B, Kuraner T. Comparison of the cytotoxic effects and

- smear layer removing capacity of oxidative potential water, NaOCl and EDTA. *J Oral Sci* 2001;45: 233-8.
25. Sillanpää M. Environmental fate of EDTA and DTPA. *Rev Environ Contam Toxicol*, 1997;152:85-11.
26. Stojicic S, Shen Y, Qian W, Johnson B, Haapasalo M. Antibacterial and smear layer removal ability of a novel irrigant, QMiX. *Int Endod J* 2012; 45: 363-71.
27. Taneja S, Kumari M, Anand S. Effect of QMix, peracetic acid and ethylenediaminetetraacetic acid on calcium loss and microhardness of root dentine. *J Conserv Dent* 2014;17:155-8.
28. Taneja S.; Kumari M.; Anand S. Effect of QMix, peracetic acid and ethylenediaminetetraacetic acid on calcium loss and microhardness of root dentine. *J Conserv Dent*, v. 17, n. 2, p. 155-8, 2014.

29. Torabinejad M, Khademi A A, Babagoli J, et al. A new solution for the removal of the smear layer. *J Endod* 2003; 29:170–5.
30. Uzunoglu E, Aktemur 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* 2012;38:1110-3.
31. Uzunoglu E, Aktemur 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* 2012;38:1110-3.
32. Wayman B E, Kopp W M, Pinerio G J, Lazzari E P. Citric and lactic acids as root canal irrigants in vitro. *J Endod* 1979;4:258-65.
33. Zandi H, Rodrigues R C, Kristoffersen A. K, Enersen M, Mdala I, Ørstavik D, Rôças I N, Siqueira J F, Jr J.

Antibacterial Effectiveness of 2 Root Canal Irrigants  
in Root-filled Teeth with Infection: A Randomized  
Clinical Trial. Endod 2016;42:1307-13.