

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**PROGRAMA DE ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**



**COMPARACIÓN *IN VITRO* DE LA ACTIVIDAD QUELANTE DEL ÁCIDO  
ETIDRÓNICO Y EL ÁCIDO ETILENDIAMINOTETRAACÉTICO**

TRABAJO TERMINAL QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALIDAD  
EN ENDODONCIA

**PRESENTA**

C.D. ISABEL GUEVARA SÁNCHEZ

**PRESIDENTE**

DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ

**SINODAL**

DRA. EUSTOLIA RODRÍGUEZ VELÁZQUEZ

**SINODAL**

M.C.S. LUIS HERNÁN CARRILLO VÁRGUEZ

**SINODAL**

DR. HÉCTOR ALFONSO MAGAÑA BADILLA

TIJUANA, BAJA CALIFORNIA; MÉXICO

JUNIO 2022

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA  
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

**"2022, año de la erradicación de la violencia contra las mujeres en Baja California"**

Tijuana, Baja California a, 25 de mayo de 2022

**AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **COMPARACIÓN *IN VITRO* DE LA ACTIVIDAD QUELANTE DEL ÁCIDO ETIDRÓNICO Y EL ÁCIDO ETILENDIAMINOTETRAACÉTICO.**

Propuesto por la C.D. ISABEL GUEVARA SÁNCHEZ, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

**ATENTAMENTE**

**DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ**  
PRESIDENTE

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA  
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

**"2022, año de la erradicación de la violencia contra las mujeres en Baja California"**

Tijuana, Baja California a, 25 de mayo de 2022

**AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **COMPARACIÓN *IN VITRO* DE LA ACTIVIDAD QUELANTE DEL ÁCIDO ETIDRÓNICO Y EL ÁCIDO ETILENDIAMINOTETRAACÉTICO.**

Propuesto por la C.D. ISABEL GUEVARA SÁNCHEZ, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

**ATENTAMENTE**



**DRA. EUSTOLIA RODRÍGUEZ VELÁZQUEZ  
SINODAL**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA  
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

**"2022, año de la erradicación de la violencia contra las mujeres en Baja California"**

Tijuana, Baja California a, 25 de mayo de 2022

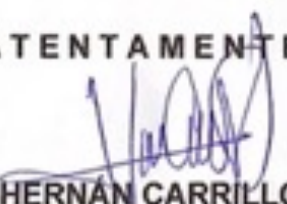
**AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **COMPARACIÓN *IN VITRO* DE LA ACTIVIDAD QUELANTE DEL ÁCIDO ETIDRÓNICO Y EL ÁCIDO ETILENDIAMINOTETRAACÉTICO.**

Propuesto por la C.D. ISABEL GUEVARA SÁNCHEZ, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

**ATENTAMENTE**

  
**M.C.S. LUIS HERNÁN CARRILLO VÁRGUEZ**  
SINODAL

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA  
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

**"2022, año de la erradicación de la violencia contra las mujeres en Baja California"**

Tijuana, Baja California a, 25 de mayo de 2022

**AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **COMPARACIÓN *IN VITRO* DE LA ACTIVIDAD QUELANTE DEL ÁCIDO ETIDRÓNICO Y EL ÁCIDO ETILENDIAMINOTETRAACÉTICO.**

Propuesto por la C.D. ISABEL GUEVARA SÁNCHEZ, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

**ATENTAMENTE**



**DR. HÉCTOR ALFONSO MAGAÑA BADILLA**  
SINODAL

# **Comparación *in vitro* de la actividad quelante del ácido etidrónico y el ácido etilendiaminotetraacético**

**PRESENTA**

---

C.D. ISABEL GUEVARA SÁNCHEZ

**PRESIDENTE**

**(DIRECTORA DEL PROYECTO)**

---

DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ

**SINODALES**

**(CO-DIRECTORES DEL PROYECTO)**

---

DRA. EUSTOLIA RODRÍGUEZ  
VELÁZQUEZ

---

DR. LUIS HERNÁN CARRILLO  
VÁRGUEZ

---

DR. HÉCTOR ALFONSO MAGAÑA BADILLA

Tijuana, Baja California, 06 de Junio de 2022

## AGRADECIMIENTOS

Primeramente, quiero agradecer a mis padres que siempre creyeron en mí y me apoyaron, a ellos les dedico cada uno de mis logros, ya que son mi ejemplo de esfuerzo y perseverancia. A mis hermanos por apoyarme incondicionalmente en cada una de mis decisiones. A mi novio por siempre estar, e ir de mi mano apoyándome en este proceso de superación profesional.

Agradezco a mi directora de tesis, Dra. Ana Gabriela Carillo Vázquez por apoyarme en cada parte del desarrollo de nuestro proyecto, y en especial, por darme la oportunidad de continuar con mi formación profesional, por su completa dedicación y entrega hacia nuestro posgrado.

También quiero agradecer de manera muy sincera al Dr. Hernán Carillo y a la Dra. Eustolia Rodríguez, que siempre tuvieron la mejor actitud y disposición de ayudarme durante todo el proceso de desarrollo.

Agradezco al Dr. Héctor Magaña y a Daniel Sosa, por darse el tiempo de apoyarme y prestar sus instalaciones en la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería UABC para el desarrollo de este proyecto.

Por último, pero no menos importante quiero agradecer a mi segunda casa, Tj endodontics, a cada uno de los doctores, doctoras y asistentes que me acompañaron y apoyaron en este proyecto, muchas gracias.

**AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES**

Quiero agradecer a las siguientes instituciones:

A CONACyT por la beca otorgada No. CVU: 1082590

A la Universidad Autónoma de Baja California por abrirme las puertas y ser parte de mi formación como especialista.



## CONTENIDO

|                                                                                         |            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>AGRADECIMIENTOS .....</b>                                                            | <b>i</b>   |
| <b>CONTENIDO.....</b>                                                                   | <b>iii</b> |
| <b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>                                                           | <b>v</b>   |
| <b>LISTA DE ABREVIATURAS .....</b>                                                      | <b>vi</b>  |
| <b>I. RESUMEN .....</b>                                                                 | <b>1</b>   |
| <b>II. INTRODUCCIÓN .....</b>                                                           | <b>2</b>   |
| 2.1. ENDODONCIA.....                                                                    | 2          |
| 2.1. OBJETIVOS DE ENDODONCIA .....                                                      | 2          |
| 2.2. OBJETIVO DE LA IRRIGACIÓN.....                                                     | 4          |
| 2.3. AGENTES IRRIGANTES ENDODÓNTICOS.....                                               | 5          |
| 2.3.1. Hipoclorito de sodio .....                                                       | 6          |
| 2.3.2. Ácido etilendiaminotetraacético.....                                             | 7          |
| 2.3.3. Clorhexidina .....                                                               | 8          |
| 2.3.4. Irrigación secuencial .....                                                      | 9          |
| 2.4. AGENTES QUELANTES.....                                                             | 10         |
| 2.5. DENTINA .....                                                                      | 13         |
| 2.6. AFECTACIONES ASOCIADAS A LAS ALTERACIONES DE LOS<br>COMPONENTES DE LA DENTINA..... | 15         |
| 2.7. ESPECTROSCOPÍA INFRARROJA POR TRANSFORMADA DE FOURIER<br>(FTIR).....               | 17         |
| <b>III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>                                             | <b>19</b>  |
| <b>IV. JUSTIFICACIÓN .....</b>                                                          | <b>20</b>  |

|                                                                         |           |
|-------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>V. HIPÓTESIS.....</b>                                                | <b>21</b> |
| 5.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO.....                                          | 21        |
| <b>VI. OBJETIVOS .....</b>                                              | <b>22</b> |
| 6.1. OBJETIVO GENERAL.....                                              | 22        |
| 6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....                                         | 22        |
| <b>VII. VARIABLES .....</b>                                             | <b>23</b> |
| 7.1. VARIABLE INDEPENDIENTE .....                                       | 23        |
| 7.2. VARIABLE DEPENDIENTE .....                                         | 23        |
| 7.3. OPERACIÓN DE VARIABLES .....                                       | 23        |
| <b>VIII. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>                                 | <b>24</b> |
| 8.1. TIPO DE ESTUDIO.....                                               | 24        |
| 8.2. UNIVERSO DE ESTUDIO.....                                           | 24        |
| 8.3. MATERIALES E INSTRUMENTAL .....                                    | 24        |
| 8.4. METODOLOGÍA .....                                                  | 26        |
| 8.4.1. Preparación de las muestras .....                                | 26        |
| 8.4.2. Protocolo de irrigación .....                                    | 27        |
| 8.4.3. Preparación de las muestras para su caracterización por FTIR.... | 29        |
| 8.4.4. Caracterización por FTIR-ATR.....                                | 30        |
| <b>IX. RESULTADOS .....</b>                                             | <b>31</b> |
| <b>X. DISCUSIÓN .....</b>                                               | <b>34</b> |
| <b>XI. CONCLUSIONES.....</b>                                            | <b>37</b> |
| <b>XII. RECOMENDACIONES .....</b>                                       | <b>38</b> |
| <b>XIII. BIBLIOGRAFÍA.....</b>                                          | <b>39</b> |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Reconstrucción por microtomografía computarizada en vistas clínicas mesial y distal de un molar superior. .... | 3  |
| Figura 2. Anatomía radicular de molar mandibular. ....                                                                   | 4  |
| Figura 3. Hipoclorito de sodio marca Ultradent. ....                                                                     | 7  |
| Figura 4. EDTA marca Ultradent. ....                                                                                     | 8  |
| Figura 5. Clorhexidina marca Ultradent. ....                                                                             | 9  |
| Figura 6. Paracloroanilina. ....                                                                                         | 10 |
| Figura 7. Microfotografía de muestra de dentina de tercio medio radicular. ....                                          | 12 |
| Figura 8. Estructura química del HEBP. ....                                                                              | 13 |
| Figura 9. Esquema de dentina peritubular e intertubular. ....                                                            | 15 |
| Figura 10. Fractura radicular vertical. ....                                                                             | 17 |
| Figura 11. Espectros infrarrojos de membrana de celulosa. ....                                                           | 18 |
| Figura 12. Identificación de tercio medio radicular de órganos dentarios unirradiculares. ....                           | 26 |
| Figura 13. Eliminación de restos de tejido pulpar. ....                                                                  | 27 |
| Figura 14. Irrigación y activación de agentes irrigantes. ....                                                           | 28 |
| Figura 15. Horno de secado "Vacuum oven" ....                                                                            | 29 |
| Figura 16. Instrumental para obtención de muestras en partículas pequeñas. ....                                          | 29 |
| Figura 17. Espectrofotómetro infrarrojo "Thermo Scientific". ....                                                        | 30 |
| Figura 18. Gráfica de espectros de infrarrojos del protocolo de irrigación a 5 min. ....                                 | 32 |
| Figura 19. Gráfica de espectros de infrarrojos del protocolo de irrigación a 10 min. ....                                | 33 |

## LISTA DE ABREVIATURAS

|                 |                                                                                                                    |
|-----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>°C</b>       | Grados centígrados                                                                                                 |
| <b>ATR</b>      | Reflexión total atenuada                                                                                           |
| <b>Ca</b>       | Calcio                                                                                                             |
| <b>CHX</b>      | Clorhexidina                                                                                                       |
| <b>EDTA</b>     | Ácido etilendiaminotetraacético                                                                                    |
| <b>FTIR-ATR</b> | Microespectroscopía de infrarrojo con transformada de fourier con sonda de ATR acoplada (por sus siglas en inglés) |
| <b>HEBP</b>     | Ácido etidrónico (por sus siglas en inglés)                                                                        |
| <b>ICP-AES</b>  | Espectrometría de emisión atómica de plasma acoplada (por sus siglas en inglés)                                    |
| <b>IR</b>       | Infrarrojo                                                                                                         |
| <b>K</b>        | Potasio                                                                                                            |
| <b>Mg</b>       | Magnesio                                                                                                           |
| <b>mL</b>       | Mililitros                                                                                                         |
| <b>mm</b>       | Milímetros                                                                                                         |
| <b>Mn</b>       | Manganeso                                                                                                          |
| <b>Na</b>       | Sodio                                                                                                              |
| <b>NaOCl</b>    | Hipoclorito de sodio                                                                                               |
| <b>NCP</b>      | Proteínas no colágenas (por sus siglas en inglés)                                                                  |

## *LISTA DE ABREVIATURAS*

|            |                                             |
|------------|---------------------------------------------|
| <b>P</b>   | Fósforo                                     |
| <b>PAA</b> | Ácido paracético (por sus siglas en inglés) |
| <b>S</b>   | Azufre                                      |
| <b>Zn</b>  | Zinc                                        |

## I. RESUMEN

**Introducción:** La irrigación tiene un papel central en el tratamiento de endodoncia. Sin embargo, varias soluciones de irrigación tienen efectos potencialmente citotóxicos y desmineralizantes, provocando alteraciones químicas en la estructura de la dentina.

**Objetivo:** Evaluar *in vitro* el efecto del EDTA al 17% y HEBP 18% sobre el contenido mineral de la dentina, al ser empleados como agentes quelantes en el protocolo de irrigación final del tratamiento de conductos.

**Metodología:** Se emplearon un total de 5 premolares mandibulares unirradiculares de reciente extracción. Se identificó y seccionó el tercio medio radicular en un disco de dentina, cada una de estas fue dividida en 2 secciones, teniendo un total de 10 muestras, las cuales fueron divididas en 5 grupos ( $n=2$ ), según los siguientes protocolos de irrigación: 1) Agua destilada (control); 2) NaOCl al 5.25% alternado con EDTA al 17% (5 min); 3) NaOCl al 5.25% alternado con HEBP al 18% (5 min); 4) NaOCl al 5.25% alternado con EDTA al 17% (10 min) y 5) NaOCl al 5.25% alternado con HEBP al 18% (10 min). Las muestras se pulverizaron y caracterizaron a través de espectroscopía infrarroja por transformada de fourier con sonda de ATR acoplada (FTIR-ATR).

**Resultados:** No se mostraron cambios en cuanto a la intensidad de la banda correspondiente al grupo fosfato ( $1010\text{ cm}^{-1}$ ) en los grupos 1, 2 y 3, lo que nos indica que el tiempo de irrigación durante 5 min no generó una pérdida de sustancia inorgánica del tejido dentinario. En los grupos 4 y 5 existió una disminución del contenido inorgánico de las muestras del tejido dentinario después de la exposición a los agentes quelantes durante 10 min.

**Conclusiones:** La exposición del tejido dentinario a los agentes EDTA Y HEBP durante 10 min disminuyó el contenido inorgánico en la dentina radicular. El HEBP se puede considerar como un sustituto para el EDTA por su efecto menos agresivo en dentina, evitando una desmineralización excesiva debido a su acción quelante débil.

## **II. INTRODUCCIÓN**

### **2.1. ENDODONCIA**

Como definición de endodoncia tenemos que es “la rama de la odontología que se encarga de la morfología, fisiología y patología de la pulpa dental humana y los tejidos perirradiculares, su estudio y práctica abarcan las ciencias básicas y clínicas incluyendo la biología de la pulpa normal, la etiología, diagnóstico, prevención, tratamiento de enfermedades y lesiones de la pulpa, así como las afecciones perirradiculares asociadas (1).

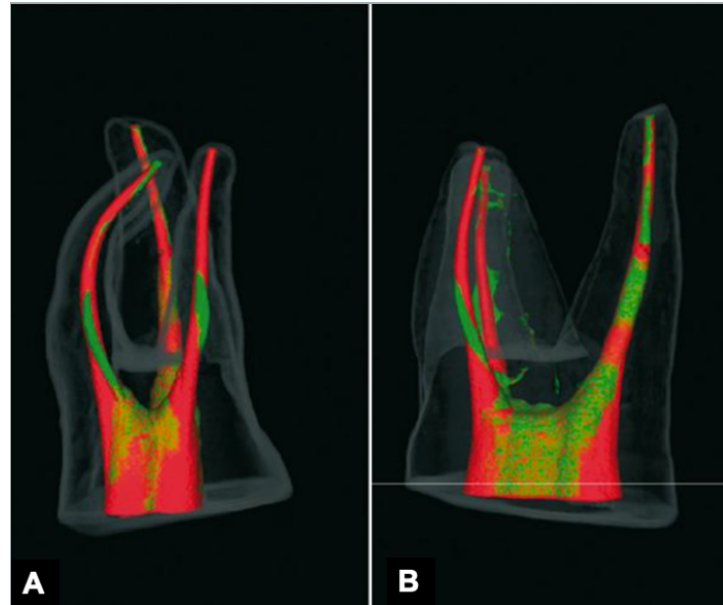
El éxito del tratamiento del sistema de conductos radiculares depende de la metodología y calidad de la instrumentación, irrigación, desinfección y obturación tridimensional del espacio del conducto radicular; para ello diferentes tipos de instrumentos manuales, mecanizados y soluciones irrigadoras han sido empleadas con el objetivo de obtener un espacio limpio y conformado para recibir la obturación. Las fallas del tratamiento de endodoncia generalmente se relacionan con una desinfección insuficiente del conducto radicular, conductos radiculares sin obturar o con una obturación insuficiente y restauraciones coroneales inadecuadas (2,3).

### **2.1. OBJETIVOS DE ENDODONCIA**

Los principales objetivos del tratamiento de conductos consisten en eliminar la periodontitis apical mediante desinfección y obturación del sistema de conductos radicular. Los microorganismos planctónicos de la cavidad pulpar y el conducto radicular coronal pueden ser eliminados con facilidad por los irrigantes al principio del procedimiento; sin embargo, las bacterias presentes en áreas del conducto menos accesibles todavía pueden provocar periodontitis apical. En la práctica cotidiana, estas bacterias solo pueden erradicarse después de la instrumentación del conducto radicular (4).

El principal objetivo de la instrumentación es facilitar la irrigación, la desinfección y obturación. Varios estudios que utilizan técnicas avanzadas como microtomografía computarizada (TC) han demostrado que existen áreas proporcionalmente grandes

de la pared del conducto radicular que los instrumentos no logran tocar (Figura 1), por lo que enfatizan sobre la importancia de los medios químicos para limpiar y desinfectar todas las áreas del conducto radicular (5).



**Figura 1. Reconstrucción por microtomografía computarizada en vistas clínica mesial y distal de un molar superior.**

***En la figura se muestra un primer molar superior preparado con un sistema rotatorio de níquel-titanio. El área verde indica la forma pretratamiento y el área roja, la forma postratamiento. Las verdes y rojas mezcladas indican ningún cambio, es decir, sin eliminación de dentina radicular (4).***

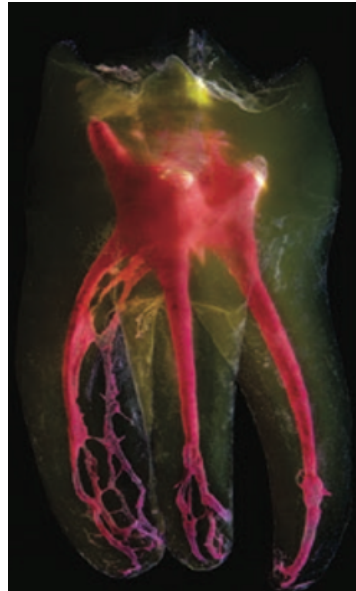
Debido a la complejidad de la anatomía interna del sistema de conductos (Figura 2) es imposible alcanzar una completa limpieza a expensas de la instrumentación. Por ello, es esencial para el éxito endodóntico, la acción de diferentes irrigantes que consigan una completa remoción de los detritus pulpaes vitales y necróticos, de los microorganismos y sus toxinas (6).

La irrigación consiste en el lavado y la desinfección completa del sistema de conductos, sus objetivos se dividen en mecánicos, químicos y biológicos. Los objetivos mecánicos y químicos son los siguientes (4):

- 1) Eliminar el barrillo dentinario.
- 2) Lubricar el conducto.



- 3) Disolver el tejido orgánico e inorgánico.
- 4) Prevenir la formación de una capa de frotis durante la instrumentación o disolverla una vez que se ha formado.



**Figura 2. Anatomía radicular de molar mandibular.**

***En la figura se muestra la compleja anatomía radicular interna de un molar mandibular diafanizado con la técnica de Holm Reuver (7).***

Históricamente, innumerables compuestos en solución acuosa se han sugerido como irrigantes del conducto radicular, incluidas sustancias inertes como cloruro de sodio (solución salina) o biocidas altamente tóxicos y alergénicos como formaldehído (8).

## **2.2. OBJETIVO DE LA IRRIGACIÓN**

El proceso de desinfección del conducto radicular no incluye solamente al conducto principal. En realidad, es indispensable que englobe a los conductos laterales, secundarios, interconductos y deltas apicales, ya que estas zonas no son accesibles a los instrumentos. Además, la propia dentina está compuesta por túbulos llenos de prolongaciones de odontoblastos, que, en el caso de pulpas necróticas, pueden encontrarse contaminados por bacterias (9).

**Objetivos de la irrigación (4):**

**Limpieza:** Al eliminar por remoción y/o disolución restos pulpares vitales o necróticos y barrillo dentinario producto de la preparación.

**Desinfección:** Al eliminar las bacterias existentes en el conducto alterando el pH del medio.

**Lubricación:** Al facilitar la acción conformadora de los instrumentos endodónticos.

La irrigación tiene un papel central en el tratamiento de endodoncia. Durante y después de la instrumentación, los irrigantes facilitan la eliminación de microorganismos, restos de tejido y de dentina desde el conducto radicular a través de un mecanismo de lavado. Los irrigantes también pueden ayudar a evitar la acumulación de tejido duro y blando en el conducto radicular apical y la extrusión de material infectado en el área periapical. Varias soluciones irrigantes tienen actividad antimicrobiana y matan activamente las bacterias y levaduras cuando se introducen en contacto directo con los microorganismos. Sin embargo, varias soluciones de irrigación también tienen efectos potencialmente citotóxicos, y pueden causar un dolor severo si obtienen acceso a los tejidos periapicales (5).

**2.3. AGENTES IRRIGANTES ENDODÓNTICOS**

La selección de una sustancia irrigadora no debe ser aleatoria. El parámetro debe ser regido por el caso en cuestión para que se obtenga el mejor resultado en cuanto a limpieza, saneamiento y desinfección (10).

Un irrigante óptimo debe tener todas o la mayoría de las siguientes características positivas, pero ninguna de las propiedades negativas o dañinas (4):

1. Acción de lavado (ayuda a eliminar detritus).
2. Reducir la fricción del instrumento durante la preparación (lubricante).
3. Facilitar la eliminación de dentina.
4. Penetrar hasta la periferia del conducto.
5. Disolver la materia orgánica (colágeno de dentina, tejido pulpar, biopelícula).
6. Eliminar bacterias y levaduras (biopelículas).
7. No irritar ni dañar el tejido periapical vital.

8. No tener efectos cáusticos ni citotóxicos.
9. No debilitar la estructura del diente.

Existen tres soluciones irrigantes comúnmente utilizadas en endodoncia: hipoclorito de sodio (NaOCl), ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y clorhexidina (CHX). Sin embargo, ninguno de estos irrigantes es capaz de cumplir con los requisitos ideales. Además, cada uno tiene sus propias ventajas y desventajas en diferentes concentraciones (4).

### **2.3.1. Hipoclorito de sodio**

El NaOCl se considera la solución irrigadora más utilizada en la práctica actual, por ser la que más se acerca a las condiciones ideales por su efectividad para eliminar tejido vital y no vital y además de poseer un amplio efecto antibacteriano, eliminando rápidamente bacterias, esporas, hongos y virus (incluyendo el HIV, rotavirus, HSV-1 y el virus de la hepatitis A y B). Tiene un pH alcalino entre 10.7 y 12.2, es excelente lubricante y blanqueador, posee una tensión superficial baja, posee una vida media de almacenamiento prolongada y es poco costoso (11).

El NaOCl (Figura 3) reacciona con los restos orgánicos en el sistema de conductos y de esa manera facilita la limpieza. Sin embargo, su desventaja es su gran citotoxicidad en altas concentraciones. Se han reportado efectos indeseables de la solución en cuanto a su citotoxicidad debido a que causa accidentes graves al ser inyectado accidentalmente en los tejidos vivos, corroe el metal, olor desagradable y elimina sólo la parte orgánica de la capa de barrillo dentinario. Tiene capacidad de penetración en los túbulos dentinales de 77 a 300 micras, según lo reportado por Haapasalo (4,5).



**Figura 3. Hipoclorito de sodio marca Ultradent.**

*En la figura se muestra una presentación de NaOCl de la marca Ultradent, llamada ChlorCid Surf, la cual nos menciona que la combinación de los beneficios del NaOCl al 3% con el poder de limpieza adicional del surfactante nos ayudara a romper la tensión superficial y permitir una mejor penetración de la solución (12).*

### **2.3.2. Ácido etilendiaminotetraacético**

El EDTA (Figura 4) en endodoncia fue introducido como un agente quelante en 1957 por Birger Nygaard-Østby, fue compuesto originalmente de la sal disódica del EDTA, agua destilada, y el hidróxido de sodio; más tarde se añadió un detergente para reducir la tensión superficial de la solución, mejorando así la capacidad de humectación en las paredes del conducto de la raíz y la capacidad de penetrar la dentina (13).

La eficacia de estos agentes de descalcificación de ácidos quelantes depende de la longitud de la raíz, el tiempo de aplicación, la difusión en la dentina y, especialmente, el pH de la solución, se recomienda el uso de un pH neutro de alrededor de 7.3 para las soluciones de EDTA. Este también es capaz de disolver material orgánico e inorgánico, es incoloro, tiene pH de 7-8, actúa como un agente quelante, derivando su capacidad de "secuestrar" di y tri iones metálicos catiónicos, tiene la capacidad de retirar la capa residual después de la irrigación con NaOCl, contribuye a la eliminación de las bacterias en el conducto radicular, los productos combinados tienen actividad antimicrobiana de amplio espectro. El EDTA puede tener actividad antifúngica, desmineraliza dentina (20-50 micras), tiene baja

toxicidad y se utiliza normalmente a una concentración de 17%, una de sus desventajas es que tiene poca o ninguna actividad bacteriana (14).



**Figura 4. EDTA marca Ultradent.**

*En la figura se muestra una presentación en jeringa de EDTA al 18% de la marca Ultradent (12).*

### 2.3.3. Clorhexidina

La CHX, (Figura 5) por su parte, tiene buenas propiedades antibacterianas, su actividad se limita a los virus de envoltura lipídica, activo contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, también posee sustantividad, de hecho, se ha reportado que la CHX muestra sustantividad a lo largo de aproximadamente 3 meses, sin embargo, este efecto depende del pH encontrado en el conducto por lo cual se prefiere el uso de NaOCl. Tiene la desventaja de no disolver tejido orgánico, tampoco elimina la capa de barrillo dentinario y puede producir reacciones alérgicas en algunos pacientes. Se ha utilizado también en gel como medicamento intraconducto, no tiene mal olor, citotoxicidad menor a la del NaOCl, por lo tanto, no puede sustituir a este agente irrigante, no afecta el colágeno presente en la matriz de dentina orgánica. La eficacia antibacteriana depende de su nivel de concentración, por lo que se recomienda utilizarla en endodoncia al 2% (14,15).



**Figura 5. Clorhexidina marca Ultradent.**

***En la figura se muestra una presentación en jeringa de gluconato de clorhexidina al 2%, de la marca Ultradent, llamado “Consepsis” (12).***

#### **2.3.4. Irrigación secuencial**

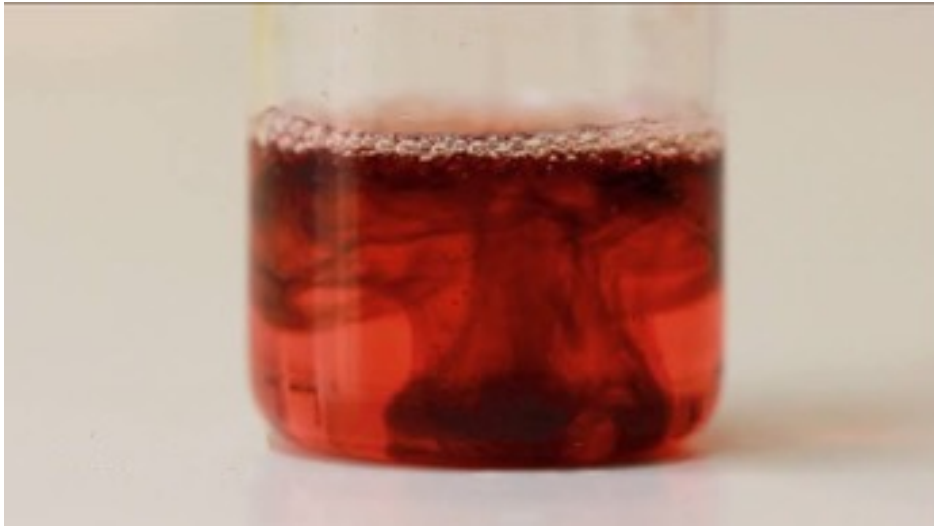
Ninguna de las soluciones irrigantes disponibles a la actualidad pueden considerarse ideales. De todas las sustancias utilizadas actualmente, el NaOCl pasa a ser el más ideal, ya que cubre más de los requisitos del irrigante endodóntico que cualquier otro compuesto conocido (16).

Por lo que podemos decir que usar una combinación de productos en la forma y secuencia correcta contribuye a un resultado exitoso del tratamiento (5).

El NaOCl y el EDTA son las dos soluciones de irrigación más utilizadas. Como cada una de estas tienen diferentes características, ha sido tentador emplearlas como una mezcla. Sin embargo, el EDTA reduce instantáneamente la cantidad de cloro cuando se mezcla con NaOCl, lo que resulta en la pérdida de actividad del NaOCl. Además, el NaOCl puede reducir el módulo elástico y la resistencia a la flexión de la dentina del conducto radicular. De hecho, el uso alternativo de NaOCl con EDTA tuvo un efecto más severo sobre la deformación de la superficie del diente. Por lo tanto, estas soluciones no deben ser mezcladas (8,17).

La CHX no tiene actividad de disolución de tejidos y se han realizado esfuerzos para combinar CHX con NaOCl para obtener beneficios adicionales de las dos

soluciones. Sin embargo, la CHX y el NaOCl no son solubles entre sí; se forma un precipitado marrón/anaranjado cuando es mezclado llamado paracloroanilina (Figura 6). La espectrofotometría de absorción atómica ha indicado que el precipitado contiene hierro, que puede ser la razón del desarrollo de la coloración naranja. Se ha demostrado que la presencia de paracloroanilina, puede tener potencial mutagénico (18).



**Figura 6. Paracloroanilina.**

***En la figura se muestra el precipitado color marrón formado por la combinación de NaOCl y CHX (19).***

### **2.4. AGENTES QUELANTES**

Como ya se mencionó en secciones anteriores, el NaOCl es una de las soluciones irrigantes más utilizadas debido a su propiedad antibacteriana y su capacidad para disolver el tejido necrótico. Sin embargo, debido a su incapacidad para eliminar los componentes inorgánicos de la capa de frotis, se recomienda el uso de un agente quelante o un ácido en combinación con NaOCl para el riego final de los conductos radiculares. Durante el proceso de desmineralización con agentes quelantes, se ha informado que posibles alteraciones químicas en la estructura de la dentina del conducto radicular provocan cambios erosivos y disminuyen la dureza de la dentina (20).

El uso secuencial de NaOCl y EDTA en la irrigación es el enfoque más ampliamente seleccionado para una desinfección eficaz, eliminación de la capa de frotis y disolución de tejido orgánico. Hay que tomar en cuenta que el EDTA es un agregado en la preparación biomecánica del conducto radicular y provee los siguientes beneficios (10):

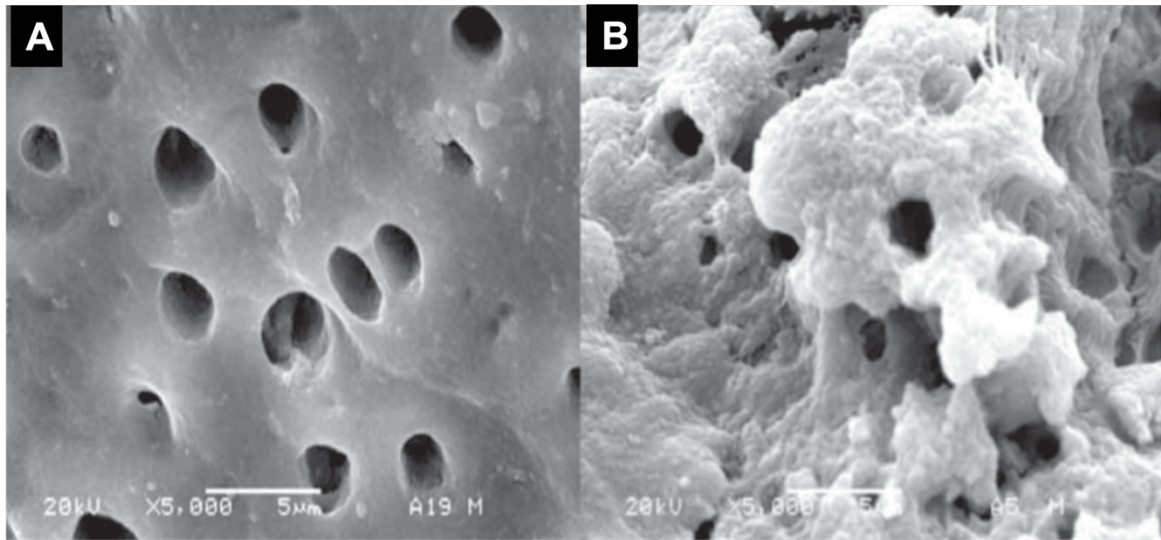
- 1) Ayuda en la limpieza y desinfección de la pared de la dentina radicular, ya que elimina el lodo dentinario resultado de la conformación del conducto durante la instrumentación.
- 2) Facilita la acción del medicamento intraconducto, al incrementar el diámetro de los túbulos dentinarios y la permeabilidad de la dentina.
- 3) Condiciona la pared de la dentina del conducto radicular para proveer un mayor grado de adhesión del material de obturación.

Sin embargo, el uso de EDTA durante el tratamiento de conductos tiene varios inconvenientes potenciales. Primero disminuye la cantidad de cloro libre disponible en la mezcla, lo que reduce la capacidad antibacteriana y de disolución de tejidos del NaOCl. También se demostró que la capacidad de eliminación de la capa de frotis del EDTA era limitada en los tercios apicales de los conductos radiculares, otra posible razón es el efecto descalcificador limitado del EDTA en el tercio apical, ya que puede generar la reducción de la matriz orgánica no colágena en esa área, debido a que el mecanismo de quelación del EDTA también incluye la eliminación de proteínas no colágenas solubles en agua (NCP), fosfoproteínas y el calcio. Estas alteraciones pueden afectar la capacidad de sellado y la adhesión de los materiales dentales, incluidos los cementos a base de resina y los selladores endodónticos, así como también la naturaleza y fuerza de adhesión de los microorganismos a la dentina (20,21).

Cuando el EDTA es usado en exceso, el 73% del componente inorgánico de polvo de dentina humano puede ser quelado después de una hora de exposición. Por lo que no hay que utilizarlo por mucho tiempo dentro del conducto. El EDTA utilizado por 1 min dentro del conducto radicular es efectivo en la remoción del lodo dentinario. Sin embargo, su aplicación por 10 min causa erosión en la dentina



peritubular e intertubular (Figura 7), esta erosión se debe a una excesiva apertura de los túbulos y un ensanchamiento del diámetro tubular (10).



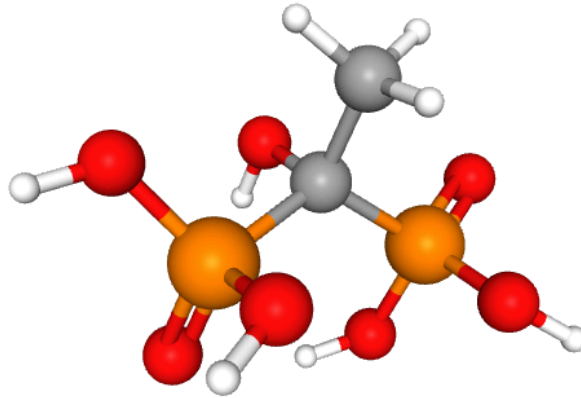
**Figura 7. Microfotografía de muestra de dentina de tercio medio radicular.**

***En el panel A se puede observar dentina de apariencia normal en túbulos y superficie sin muestra de erosión. Al contrario del panel B donde se observa erosión severa y gran destrucción dentinaria (10).***

En los últimos años, se han investigado agentes quelantes alternativos para abordar las deficiencias de EDTA, en particular el 1-hidroxietiliden-1, 1bifosfonato (HEBP), este es un bifosfonato administrado sistémicamente, que se usa para tratar la osteoporosis, se cree que inhibe la resorción del hueso a través de varios mecanismos celulares, incluida la alteración de la actividad osteoclástica, y se sugirió para mostrar una eliminación eficaz de la capa de frotis y actividad antimicrobiana en los conductos radiculares de los dientes (20).

El ácido etidrónico (Figura 8) como también se le conoce, es un agente quelante débil que necesita cinco minutos para eliminar completamente la capa de frotis. Durante y después de la preparación biomecánica, esta solución se puede mezclar con soluciones de NaOCl sin pérdida a corto plazo de las propiedades deseadas de ambos compuestos. Como es un quelante débil, el HEBP fue sugerido para ejercer un efecto menos agresivo sobre la dentina que el EDTA. La solución de NaOCl / HEBP podría usarse como un solo irrigante durante y después de la

instrumentación, reemplazando la irrigación final con un agente quelante como el EDTA (20,21).



**Figura 8. Estructura química del HEBP.**

***En la figura se muestra la estructura química tridimensional del HEBP (22).***

Se ha introducido un nuevo régimen de irrigación denominado quelación continua, en el que se mezcla un quelante débil, 1-hidroxiethyliden-1,1-bifosfonato o ácido etidrónico (HEBP o EA) con NaOCl, para ser utilizado como un todo incluido. Una sola solución de irrigación. Esta estrategia evita la formación de restos de tejido duro. Existe evidencia que demuestra que este régimen posee una eliminación de residuos de tejido duro acumulados y efectos antibiofilm superiores en comparación con la secuencia de NaOCl / EDTA (23).

### **2.5. DENTINA**

La dentina es un tejido conjuntivo mineralizado de origen ectomesenquimal que constituye la mayor parte del diente, recubierto por el esmalte en la porción coronal y por el cemento en la porción radicular. Está compuesta por un 20% de materia orgánica, 70 % de minerales y 10 % de agua. El principal componente de la matriz orgánica es el colágeno tipo I y colágeno tipo III, 10% consiste en proteoglicanos y otras proteínas no colágenas como las sialoproteínas dentinales y fosforinas y menos del 2% son lípidos. La fase mineral está constituida en un 90% hidroxiapatita

carbonatada y el 10 % restante de fosfatos, y otros minerales. La principal diferencia de la matriz extracelular de los tejidos conjuntivos blandos y la dentina es el alto grado de entrecruzamiento del colágeno y la aparente ausencia de colágeno tipo III. El colágeno tipo I le confiere las propiedades mecánicas a la dentina como la elasticidad y resistencia a la flexión y compresión, es el principal componente de la matriz dentinal. Esta glucoproteína de tipo fibrilar es la más abundante en el cuerpo humano y es un polímero fibroso tridimensional que existe en un entorno biológico acuoso, a él se asocian los proteoglicanos que contienen una gran cantidad de agua unida. Las fibras colágenas están conformadas por fibrillas de aproximadamente 50 a 100 nm de diámetro aleatoriamente en un plano perpendicular a la dirección de la formación de dentina. El agua presente en la dentina se puede encontrar en dos tipos de unión: anclada a los cristales de hidroxiapatita en la fase inorgánica y en las proteínas de la matriz colágenas y no colágenas de la fase orgánica, el otro tipo de unión es el agua libre que se encuentra en los túbulos dentinales rellenándolos y en otras porosidades, se asocia, también con iones inorgánicos de calcio y fósforo; el calcio (Ca) y fósforo (P) presentes en los cristales de hidroxiapatita, que son los principales componentes inorgánicos de tejido duro dental (24,25).

La concentración de minerales en el tejido duro determina su rigidez, durante la mineralización entre más componente mineral se forme más agua se desplaza, por lo tanto, el tejido se vuelve más rígido, esto se refleja en altos valores de módulo de elasticidad y resistencia estática observándose bajos valores de energía de deformación por lo cual el tejido es más frágil. En una escala microscópica, las características biomecánicas más importantes de la dentina se las confiere su organización en túbulos dentinales, que son una red que se extienden casi radialmente hacia fuera desde la pulpa hacia la unión dentina/esmalte y la unión cemento/dentina. Cada túbulo está rodeado por acoplamientos altamente mineralizados de cristales de apatita conocidos como la dentina peritubular. La dentina intertubular ocupa la región entre los túbulos y se compone de una malla de fibrillas de colágeno orientadas esencialmente perpendiculares a los túbulos y unidas por cristales de apatita (26).

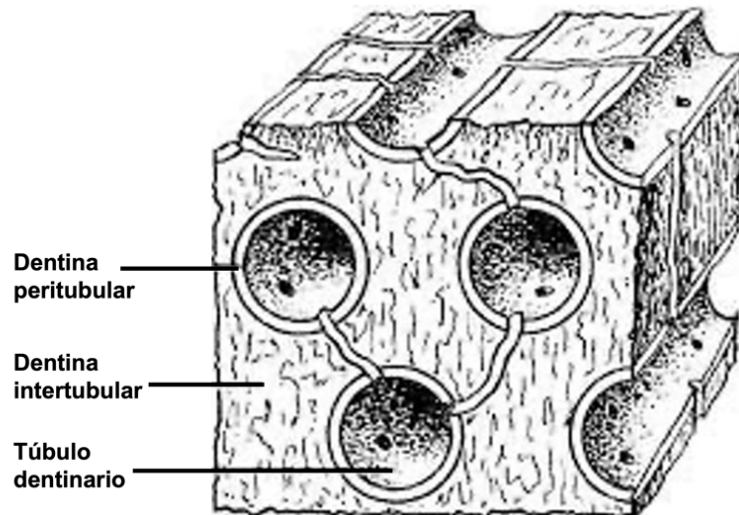


Figura 9. Esquema de dentina peritubular e intertubular.

*Se puede observar en la figura la estructura de la dentina, la cual consiste en túbulos dentinarios rodeados por un tejido hipermineralizado llamado dentina peritubular. Entre la dentina peritubular se encuentra la dentina intertubular (27).*

## **2.6. AFECTACIONES ASOCIADAS A LAS ALTERACIONES DE LOS COMPONENTES DE LA DENTINA.**

Históricamente, se ha hablado de la susceptibilidad a la fractura de los dientes tratados endodónticamente, la problemática ha sido estudiada por múltiples autores llevando a diferentes conclusiones al respecto, en las primeras investigaciones del tema se afirmaba que el agua en el tejido se reduce hasta en un 9%, sin embargo, en la actualidad estas versiones son controvertidas, pues no se encuentran diferencias significativas entre los dientes tratados endodónticamente y los dientes sin tratamiento de endodoncia, lo importante y la recomendación principal es alterar lo menos posible la estructura. Grietas en la dentina o fracturas radiculares se producen cuando la tensión de tracción en la pared del conducto radicular excede la tensión de tracción de la dentina (28).

Además de los efectos deseados de los irrigantes, estos también actúan sobre la dentina, provocando cambios en sus componentes orgánicos e inorgánicos. Estas alteraciones pueden afectar la capacidad de sellado y la adhesión de los materiales dentales, incluidos los cementos a base de resina y los selladores endodónticos,

así como también la naturaleza y fuerza de adhesión de los microorganismos a la dentina (21).

Algunos estudios han demostrado que la exposición prolongada a altas concentraciones de hipoclorito puede provocar a una reducción considerable de la resistencia a la flexión y el modo elástico de la dentina (21).

Se han realizado estudios *in vitro* utilizando bloques de dentina, que pueden permitir artificialmente penetración profunda del hipoclorito en la dentina. Sin embargo, incluso el riego a corto plazo con NaOCl después de EDTA al final de la preparación quimiomecánica causa fuerte erosión de la dentina de la superficie de la pared del conducto, los autores opinan que debe evitarse la irrigación con NaOCl después de agentes desmineralizadores (5).

La aparente agresividad del EDTA para causar la erosión de la pared del conducto se atribuye al uso prolongado de NaOCl. La disminución asociada de la resistencia a la flexión de la dentina tiene una importancia clínica potencial cuando la dentina de la cámara pulpar delgada se sumerge en NaOCl durante períodos prolongados durante la instrumentación del conducto. Esto puede hacer que los dientes tratados endodónticamente sean más propensos a fracturas verticales (Figura 10) (29).

Las fracturas radiculares son la tercera causa más común de pérdida de dientes después de caries dental y enfermedad periodontal. La prevalencia de dichas fracturas en dientes tratados endodónticamente se encuentra entre el 2 y el 20 %, mientras que el 94 % de los dientes con fracturas radiculares han tenido antecedentes de tratamiento endodóntico. Se ha propuesto que la pérdida de la vitalidad pulpar altera las propiedades de la dentina; las propiedades evaluadas incluyen: cambios en el contenido de humedad y la naturaleza de colágeno. Las causas de fractura en dientes tratados endodónticamente son variadas, Kishen las clasifica en causas primarias y secundarias, definiendo las causas primarias como las que predisponen al diente a fracturas inmediatas y las secundarias lo predisponen a fracturas después de un tiempo, los factores químicos entre los cuales están los agentes irrigantes y los medicamentos los clasifica como una probable causa secundaria a la fractura (31).



**Figura 10. Fractura radicular vertical.**

*Se puede observar en la figura la presencia de una fractura radicular vertical caracterizada por presentar una pérdida de la continuidad longitudinal de la raíz que ocasiona alteraciones del ligamento periodontal, pérdida de tejido óseo y migración apical del epitelio de unión, además de producir una comunicación entre la pulpa y el periodonto que conlleva a la posterior formación de procesos inflamatorios en los tejidos de soporte a nivel lateral o apical (30).*

## **2.7. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)**

La espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) es una técnica empleada para obtener la huella dactilar molecular de una muestra biológica que absorbe la onda infrarroja de acuerdo con los enlaces químicos y estructurales de las moléculas, proporcionando información de la estructura específica de biomoléculas como lípidos, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos, a través de una serie de bandas identificables de grupos funcionales en la región electromagnética del infrarrojo medio, esto se basa en el hecho de que la mayoría de las moléculas absorben la luz en esta región, convirtiéndola en vibración molecular. Con un espectrómetro, esta absorción se mide como una función de longitud de onda (como números de onda, típicamente de  $4000 - 600 \text{ cm}^{-1}$ ) (Figura

11). El resultado es un espectro IR que se puede utilizar para identificar muestras orgánicas e inorgánicas. Esta técnica tiene una amplia gama de aplicaciones, desde el análisis de moléculas pequeñas o complejos moleculares hasta el análisis de células o tejidos (32,33).

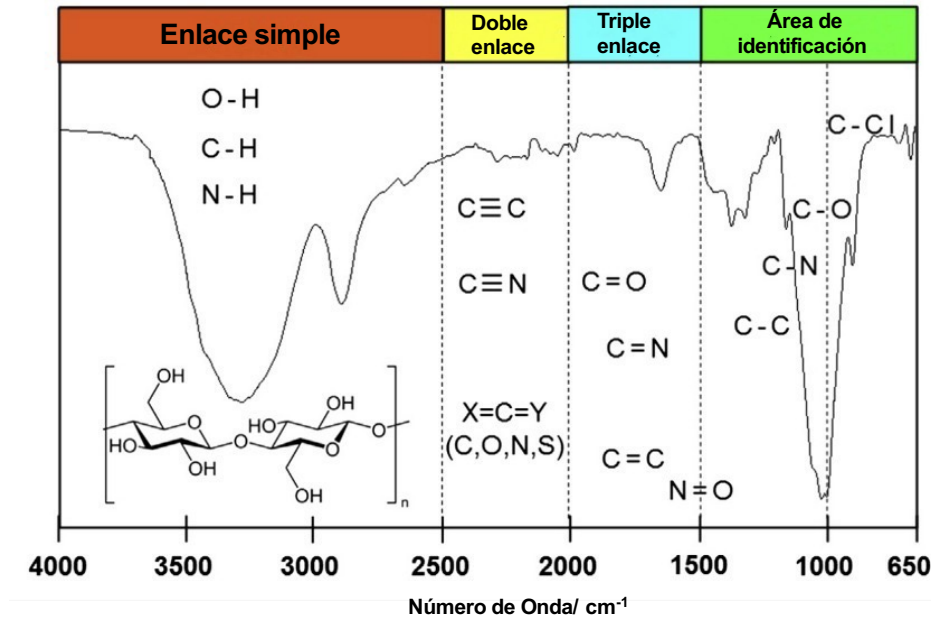


Figura 11. Espectros infrarrojos de membrana de celulosa.

*En la figura podemos observar un ejemplo de espectros de infrarrojos de una membrana de celulosa, en las que se muestran los diferentes tipos de enlaces que comúnmente podemos encontrar (32).*

### **III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En este estudio se plantea la evaluación de los efectos que puede sufrir el contenido mineral de la dentina radicular durante la irrigación con el uso de agentes quelantes, como el EDTA al 17% y el HEBP al 18%. Debido su acción quelante débil, el HEBP ha sido propuesto como alternativa del EDTA, por ello se plantea la siguiente pregunta de investigación, ¿El HEBP podría ejercer su acción quelante satisfactoriamente sin causar una pérdida excesiva del contenido mineral de la dentina radicular en comparación con el EDTA?



## IV. JUSTIFICACIÓN

El objetivo de la terapia endodóntica es prevenir o tratar la periodontitis apical. Uno de los factores que ayuda a aumentar la tasa de éxito, es la correcta instrumentación e irrigación del conducto radicular, esta conlleva al desbridamiento químico/mecánico de la pulpa infectada. Como agentes químicos tenemos el hipoclorito de sodio, considerado el irrigante de elección, debido a que posee una gran eficacia en la disolución de tejido necrótico, y es un potente agente antimicrobiano. Sin embargo, no ejerce ningún efecto sobre los componentes inorgánicos. Estos componentes inorgánicos son parte de la composición del barrillo dentinario, el cual limita la acción de los irrigantes dentro del conducto. Lo que nos lleva a la utilización de agentes quelantes, como el EDTA. Como desventaja del uso de agentes quelantes tenemos que la exposición prolongada a quelantes fuertes puede debilitar la dentina radicular.

El ácido etidróico es un agente quelante relativamente nuevo utilizado en estudios *in vitro* en endodoncia, este ha demostrado que tiene la capacidad para eliminar la capa de debris y al ser un quelante débil, este podría evitar una erosión excesiva de la dentina.

## **V. HIPÓTESIS**

### **5.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO**

La caracterización planteada en este trabajo de investigación nos permitirá identificar diferencias -si las hay- en los cambios del contenido mineral de la dentina radicular al emplear EDTA al 17% y HEBP al 18% en el protocolo de irrigación final del tratamiento de conductos.

## VI. OBJETIVOS

### 6.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar *in vitro* el efecto del EDTA al 17% y HEBP 18% sobre el contenido mineral de la dentina, al ser empleados como agentes quelantes en el protocolo de irrigación final del tratamiento de conductos.

### 6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Realizar la obtención de discos de dentina del tercio medio radicular de premolares unirradiculares de reciente extracción.
2. Realizar protocolo de irrigación a discos de dentina con NaOCl al 5.25% en combinación con EDTA al 17%.
3. Realizar protocolo de irrigación en discos de dentina con NaOCl al 5.25% en combinación con HEBP al 18%.
4. Evaluar el contenido mineral del tejido dentinario después de su exposición a las soluciones objeto de estudio a través de espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier con sonda de ATR acoplada (FTIR-ATR).

## VII. VARIABLES

### 7.1. VARIABLE INDEPENDIENTE

Agentes irrigantes (NaOCl al 5.25%, EDTA al 17% y HEBP al 18%).

### 7.2. VARIABLE DEPENDIENTE

Cambios del contenido mineral de la dentina radicular.

### 7.3. OPERACIÓN DE VARIABLES

Los diferentes agentes irrigantes se evaluaron mediante un ensayo *in vitro*. Se realizaron cortes horizontales en el tercio medio de la raíz de los órganos dentarios para obtener discos de aproximadamente 2 mm de espesor, cada uno de estos, fue dividido en dos secciones, teniendo un total de 10 muestras de dentina, las cuales fueron almacenadas en tubos eppendorf. Una vez obtenidas las muestras se realizaron los protocolos de irrigación con los diferentes agentes quelantes de objeto de estudio. Las muestras fueron pulverizadas con un mortero y pistilo para obtener la muestra en partículas más pequeñas; posterior a esto, las muestras fueron almacenadas en una cámara de secado para eliminar la humedad. Finalmente, las muestras fueron caracterizadas por FTIR.

## VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

### 8.1. TIPO DE ESTUDIO

Experimental.

### 8.2. UNIVERSO DE ESTUDIO

10 discos de dentina radicular de órganos dentarios extraídos, divididos en 5 grupos (n=2):

**Grupo 1 (control):** Agua destilada

**Grupo 2:** NaOCl al 5.25% alternado con EDTA al 17% (5 min)

**Grupo 3:** NaOCl al 5.25% alternado con HEBP al 18% (5 min)

**Grupo 4:** NaOCl al 5.25% alternado con EDTA al 17% (10 min)

**Grupo 5:** NaOCl al 5.25% alternado con HEBP al 18% (10 min)

### 8.3. MATERIALES E INSTRUMENTAL

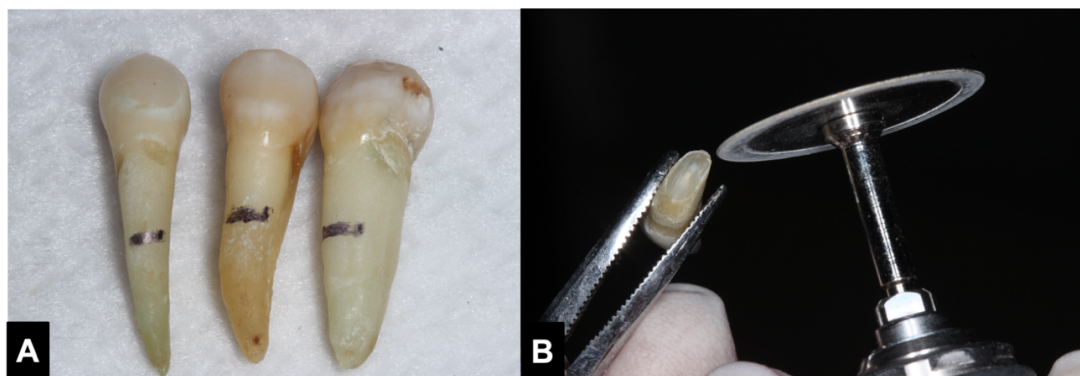
Se emplearon 5 premolares mandibulares unirradiculares humanos de reciente extracción. Para obtener los discos de dentina, los premolares fueron seccionados en el tercio medio de la raíz con un disco de diamante de doble luz (Valdi dental) colocado en un micromotor dental N3 (Micro Marathon 3). Para la irrigación de las muestras se utilizaron como agentes irrigantes endodónticos: NaOCl al 5.25% (Cloralex, INDUSTRIAS ALEN, S.A. DE C.V. México), EDTA al 17% SmearClear (Kerr, Orange, California, Estados Unidos), HEBP 18% (Sigma-Aldrich) y agua destilada. Para la eliminación de tejido pulpar se emplearon 6 limas manuales K #15 (Sybron Endo, Kerr). El sistema ultrasónico ultra X (Eighteeth Medical) se utilizó para la activación de los agentes irrigantes dentro de los tubos eppendorf. Para la pulverización de las muestras de dentina se utilizó un mortero y pistilo de porcelana (Zeigen). El análisis de composición de todas las muestras se realizó utilizando un

espectrofotómetro de FTIR con sonda ATR acoplada (Thermo Scientific Nicolet iS5).

## 8.4. METODOLOGÍA

### 8.4.1. Preparación de las muestras

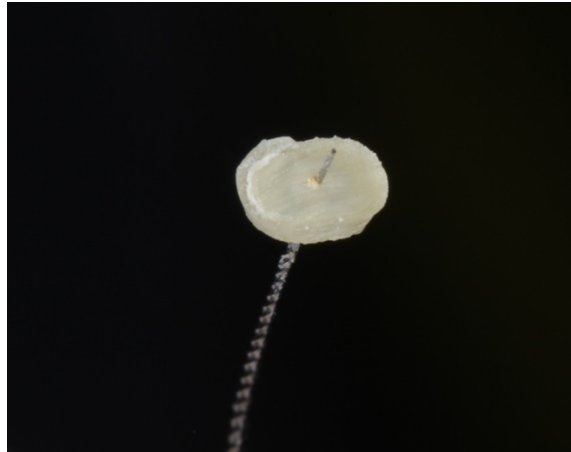
Los O.D. de reciente extracción fueron almacenados en solución salina hasta su uso para evitar su deshidratación. Se identificó el tercio medio de la raíz de cada uno de los órganos dentarios para posteriormente con una disco de diamante de doble luz seccionar un bloque de dentina de aproximadamente 2 mm de espesor (Figura 12).



**Figura 12. Identificación de tercio medio radicular de órganos dentarios unirradiculares.**

*Se puede observa, panel A) la identificación del tercio medio radicular señalados con una marca negra, de tres premolares unirradiculares, y panel B) el corte del tercio medio radicular con un disco de diamante de doble luz.*

Una vez obtenidos los discos de dentina se eliminó cualquier resto de tejido pulpar utilizando una lima K #15 (Figura 13).



**Figura 13. Eliminación de restos de tejido pulpar.**

*En la figura se muestra un disco de dentina de aproximadamente 2 mm de espesor, en el cual una lima K #15 penetra en el conducto para la eliminación de restos de tejido pulpar.*

Cada disco de dentina fue dividido en 2 secciones con un disco de diamante, teniendo un total de 10 muestras, las cuales fueron divididas aleatoriamente en 5 grupos (n=2) y almacenadas en tubos eppendorf para su posterior irrigación.

#### **8.4.2. Protocolo de irrigación**

**Grupo 1 (control):** Agua destilada

**Grupo 2:** NaOCl al 5.25% alternado con irrigación final de EDTA al 17% (5 min)

**Grupo 3:** NaOCl al 5.25% alternado con irrigación final de HEBP al 18% (5 min)

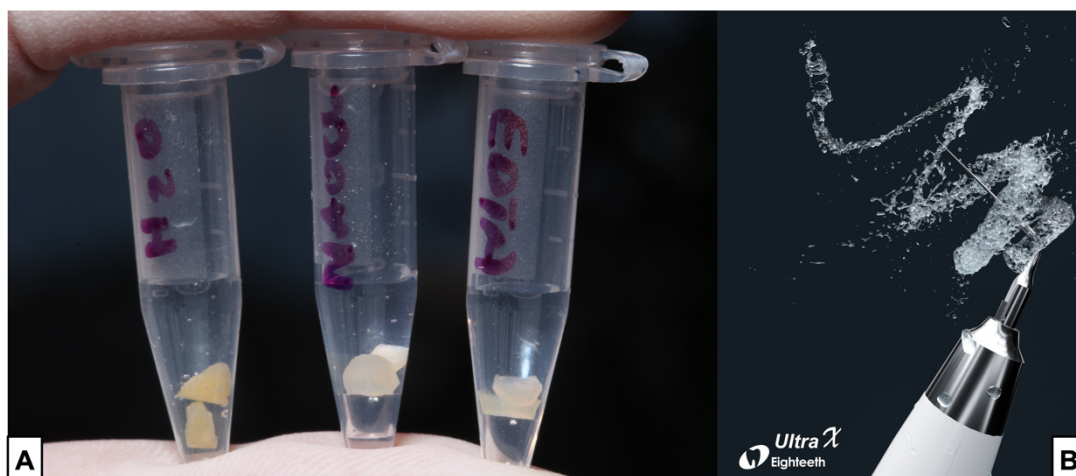
**Grupo 4:** NaOCl al 5.25% alternado con irrigación final de EDTA al 17% (10 min)

**Grupo 5:** NaOCl al 5.25% alternado con irrigación final de HEBP al 18% (10 min)

Durante el protocolo de irrigación se colocaron 0.2 mL de NaOCl al 5.25% como agente irrigante inicial durante 5 min y 10 min dependiendo el grupo al que pertenecía. Una vez terminado el tiempo de exposición al NaOCl, los discos de dentina fueron sumergidos en 0.2 mL de agua destilada por 5 min. Posteriormente, se inició con el protocolo de irrigación final con los agentes quelantes EDTA al 17% y HEBP al 18%, durante 5 min y 10 min, dependiendo el grupo al que pertenecía.



Por último, se realizó la activación del agente quelante con el sistema ultra x durante 1 min (Figura 14).



**Figura 14. Irrigación y activación de agentes irrigantes.**

*En el panel A se observan tres tubos eppendorf con 0.2 mL de los agentes irrigantes objeto de estudio, con muestras de los discos de dentina dentro. En el panel B podemos observar el sistema de activación ultrasónico “Ultra X” de la marca comercial Eighteenth (34).*

Al finalizar el protocolo de irrigación las muestras se almacenaron en agua destilada durante 30 min para evitar los efectos prolongados de las soluciones, así como también en tubos eppendorf nuevos. Las muestras fueron llevadas al horno de secado “vacuum oven” (Figura 15) a una temperatura de 40 °C durante 24 horas para la eliminación de humedad.



**Figura 15. Horno de secado "Vacuum oven"**

*En la imagen podemos observar el horno de secado vacuum oven de la marca "Precisión" en el cual las muestras fueron almacenadas.*

#### **8.4.3. Preparación de las muestras para su caracterización por FTIR.**

Para la obtención de las muestras en partículas más pequeñas para su caracterización por FTIR, los trozos de dentina fueron pulverizados con mortero y pistilo. Posteriormente, las muestras fueron almacenadas en tubos eppendorf hasta su análisis (Figura 16).



**Figura 16. Instrumental para obtención de muestras en partículas pequeñas.**

***En el panel A podemos observar el mortero y pistilo que fue necesario utilizar para pulverizar las muestras de dentina. En el panel B observamos la muestra de dentina ya pulverizada, almacenada en un tubo eppendorf correspondiente.***

#### **8.4.4. Caracterización por FTIR-ATR**

Cada una de las muestras fue analizada en el espectrómetro infrarrojo empleando el módulo ATR (Figura 17). Para su análisis, el polvo de las muestras se depositó directamente sobre la platina del equipo y fue analizada mediante el software Thermo Scientific™ OMNIC™ Specta, los datos obtenidos fueron graficados en el software DhataGraph



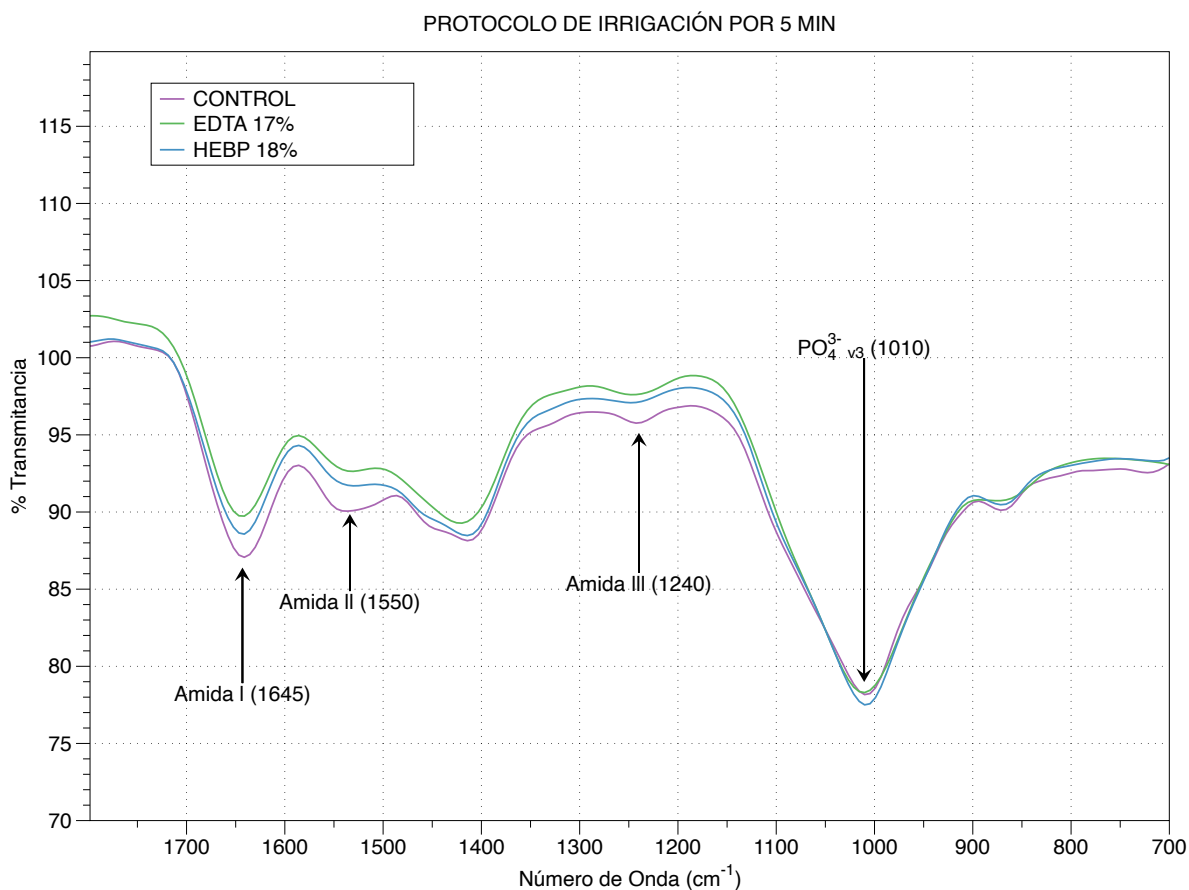
**Figura 17. Espectrofotómetro infrarrojo "Thermo Scientific".**

***En la figura podemos observar el espectrofotómetro infrarrojo de la marca "Thermo scientific" modelo Nicolet iS5, utilizado para el análisis de muestras. Se empleó un módulo de ATR, el cual facilitó el procesamiento de la muestra (FTIR-ATR).***

## IX. RESULTADOS

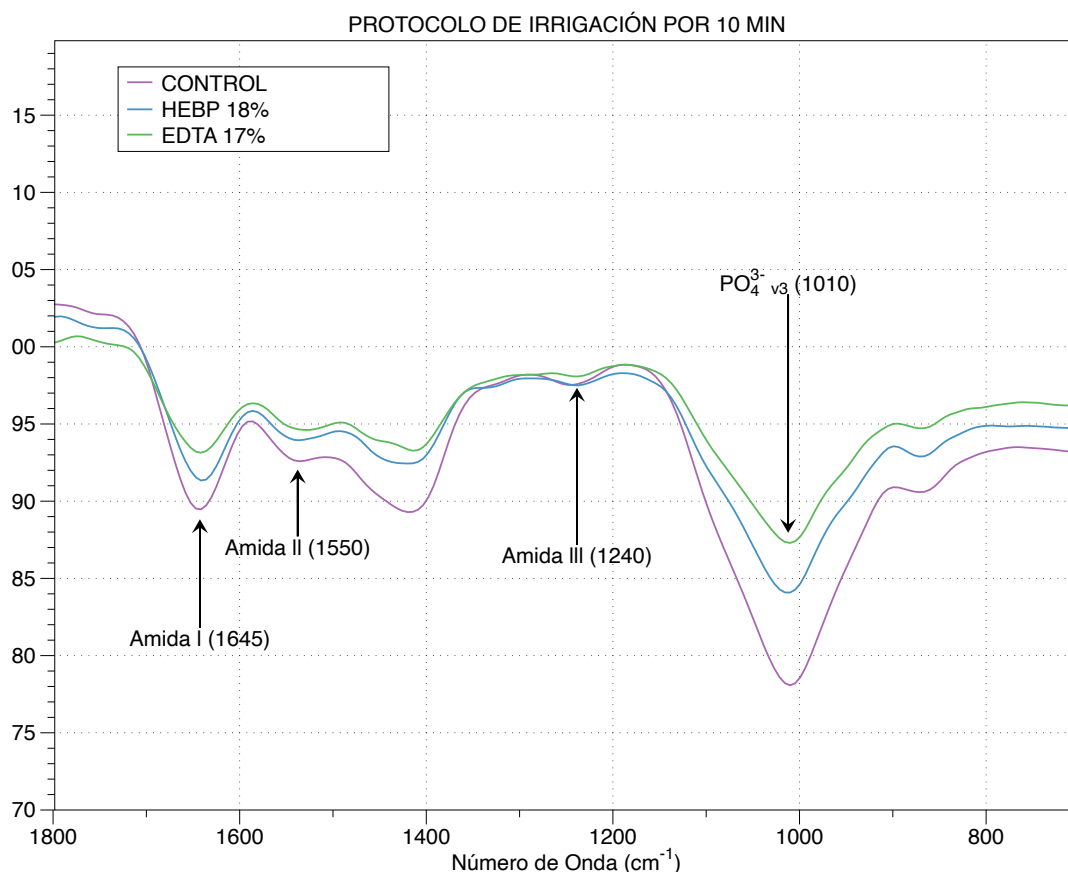
La **Figura 18**, muestra los espectros de infrarrojo de muestras de dentina tratada durante 5 min con los agentes irrigantes EDTA 17% (grupo 2), HEBP 18% (grupo 3) y agua destilada (grupo 1). A 1550 y 1645  $\text{cm}^{-1}$ , se observan bandas de intensidad débil correspondientes al doblamiento N-H, que se atribuyen a las amidas primarias y secundarias del colágeno. Por otra parte, se puede observar a 1010  $\text{cm}^{-1}$  una banda intensa característica al estiramiento P=O, correspondiente al fosfato de calcio, propio de la hidroxiapatita. En este estudio la banda de interés es la correspondiente al grupo fosfato, ya que esta indica el contenido inorgánico presente en las muestras. A partir de los espectros se puede observar que ninguno de los tres grupos experimentales mostró cambios con respecto a la intensidad de la banda del grupo fosfato, lo que indica que el tiempo de irrigación durante 5 min no generó una pérdida de sustancia inorgánica (35).

En la **Figura 19**, se muestran los espectros de infrarrojo de muestras de dentina tratada durante 10 min con los agentes irrigantes, EDTA 17% (grupo 4), HEBP 18% (grupo 5) y agua destilada (grupo 1). Se puede observar un cambio de intensidad en la banda correspondiente al grupo fosfato (1010  $\text{cm}^{-1}$ ) en las muestras de los grupos 4 y 5 en comparación al grupo control, indicándonos una disminución del contenido inorgánico de la dentina cuando esta es expuesta a los agentes quelantes durante 10 min. Asimismo en el grupo 4 (HEBP 18%) se observó que hubo una disminución menor del contenido inorgánico en comparación con el grupo 3, perteneciente al EDTA.



**Figura 18. Gráfica de espectros de infrarrojos del protocolo de irrigación a 5 min.**

*En la figura se puede observar los espectros FTIR-ATR de los grupos 1 (morado), 2 (verde) y 3 (azul). Podemos apreciar que el espectro del grupo 2 y 3 en la banda correspondiente al grupo fosfato ( $1010 \text{ cm}^{-1}$ ), no presenta cambios de intensidad en comparación con el grupo control, después de la irrigación con los agentes quelantes durante 5 min.*



**Figura 19. Gráfica de espectros de infrarrojos del protocolo de irrigación a 10 min.**

***En la figura se puede observar los espectros FTIR-ATR de los grupos 1 (morado), 4 (verde) y 5 (azul). En el número de onda del grupo fosfato ( $1010 \text{ cm}^{-1}$ ), podemos observar que el grupo perteneciente al EDTA, en comparación con el grupo control, disminuyó su intensidad considerablemente, a diferencia del grupo del HEBP. Esto debido a la irrigación de los agentes quelantes durante 10 min, indicándonos un menor contenido inorgánico en la muestra.***

## X. DISCUSIÓN

El propósito de este estudio *in vitro* fue evaluar los efectos sobre el contenido mineral de la dentina radicular durante la irrigación del conducto con el uso de agentes irrigantes quelantes. Estudios anteriores mostraron que las soluciones de irrigación modifican significativamente el contenido mineral de la dentina radicular, en particular las soluciones quelantes (36).

En este estudio se evaluó el contenido mineral de la dentina del conducto radicular que se trató con diferentes agentes quelantes utilizando el FTIR-ATR. Se utilizaron soluciones convencionales (NaOCl al 5.25% y EDTA al 17%) y no convencionales (HEBP al 18%).

Como se ha reportado en la literatura, los irrigantes gold estándar durante el tratamiento de conductos han sido el uso secuencial de NaOCl / EDTA, sin embargo, debido a los efectos no deseados del EDTA se han buscado posibles alternativas. Por lo que en este estudio se evaluó un posible sustituto del EDTA. El HEBP, el cual es una agente quelante débil que necesita 5 min para eliminar completamente el barrillo dentinario. Durante y después de la preparación biomecánica, estas soluciones se pueden mezclar con NaOCl sin pérdida a largo plazo de las propiedades deseadas de ambos (21).

En uno de los estudios realizados por Tartari y cols., reportan mediante el efecto del uso individual y combinado de NaOCl al 2.5%, HEBP al 18% y EDTA al 17% en la disolución de tejidos. En este estudio se mostró que la única solución capaz de disolver la materia orgánica era NaOCl. En las mezclas analizadas, la capacidad de disolver materia orgánica fue detenida por EDTA; sin embargo, fue mínimamente afectada por el HEBP, demostrando que esta combinación, si se usa durante la preparación biomecánica, es capaz de disolver la materia orgánica (37).

Estudios anteriores, como el realizado por Rath y cols., nos reportan mediante análisis de FTIR que el uso de NaOCl/ HEBP durante 15 min indica una disposición homogénea de los componentes orgánicos e inorgánicos. Estos hallazgos confirman que el HEBP es un quelante débil. Por el contrario, la dentina tratada con

NaOCl/EDTA durante 15 min nos mostró el agotamiento de los componentes inorgánicos de la superficie (38).

Ha existido un debate sobre el tiempo ideal que se debe usar cada agente quelante. Incluso con la gran cantidad de investigación sobre el tema, no se ha establecido un protocolo de irrigación claramente definido. Según se informa, la cantidad de tiempo que estas soluciones permanecen en contacto con las paredes del conducto ha variado de 1 a 15 min. En el presente estudio, se estudiaron tiempos de exposición de mínimo 5 min y máximo de 10 min para la irrigación con cada solución quelante (39).

En el estudio realizado por Goldberg y Spielberg se menciona que el tiempo de trabajo óptimo para EDTA es de 15 min, mientras que el estudio realizado por Calt y Serper sobre los efectos del EDTA en la eliminación del barrillo dentinario y sobre la estructura de la dentina después de 1 y 10 min, se encontró que al cabo de 1 min, la irrigación con EDTA fue eficaz para eliminar la capa de barrillo. Sin embargo, una aplicación de EDTA durante 10 min causó erosión dentinaria peritubular e intertubular excesiva. Estas diferencias se pudieron explicar por la variabilidad de las tasas de calcificación de la dentina radicular (40,41).

Con base en los estudios anteriores, se puede afirmar que los resultados obtenidos en el presente estudio fueron muy similares en cuanto a las diferencias en la disminución del contenido inorgánico cuando las muestras fueron expuestas por un tiempo más prolongado, en este caso durante 10 min al EDTA 17% y HEBP 18%.

Asimismo, se puede corroborar que en un tiempo de exposición menor de 5 min a los agentes quelantes, no existe una diferencia en los cambios del contenido inorgánico.

En cuanto a las diferencias entre EDTA 17% y HEBP 18% durante 10 min, se pudo observar que el HEBP causa una menor pérdida del contenido inorgánico en comparación con el EDTA, obteniendo resultados similares a los del estudio de Rath y cols., esto debido a la actividad quelante débil que presenta el HEBP, produciendo un efecto menos agresivo sobre la dentina (38).



Por otro lado, existen estudios cuyos resultados discrepan con Rath y cols. Ulusoy y cols., evaluaron la reducción de la nanodureza y la erosión en la dentina del conducto radicular después de la aplicación de EDTA al 17 %, HEBP al 8% y ácido paracético (PAA) al 2 % solos o combinados con NaOCl a través de SEM, el cual mostró que el uso de HEBP y NaOCl redujo los valores de nanodureza significativamente más que las otras soluciones experimentales. Por lo que se le asoció con alteraciones estructurales en la dentina del conducto radicular de los dientes extraídos (20).

Es importante comprender las propiedades físicas del órgano dentario y sus tejidos para entender el comportamiento mecánico de los dientes y poder tomar las decisiones adecuadas en las condiciones clínicas. Elegir la concentración adecuada de NaOCl y del agente quelante tendrá un impacto mínimo en las propiedades mecánicas del diente, ya que las alteraciones en la dentina pueden afectar la adhesión y la capacidad del sellador sobre su superficie, lo que puede conducir fácilmente a la fractura del diente (24).

Con base a los resultados, el HEBP se podría considerar como un sustituto en potencia para el EDTA, ya que este podría evitar la desmineralización excesiva durante los tiempos de irrigación, disminuyendo las alteraciones de las propiedades mecánicas de la dentina.

Se requieren más estudios aleatorizados *in vitro* e *in vivo* para relacionar las propiedades mecánicas de la dentina con el análisis de fractura y supervivencia y los procedimientos de adhesión en el conducto radicular después de los procedimientos de irrigación con NaOCl y HEBP.

## **XI. CONCLUSIONES**

En este proyecto de investigación se evaluó el efecto de dos agentes quelantes sobre el contenido mineral de la dentina radicular.

1.- Los resultados de FTIR-ATR sugieren que no hubo disminución del contenido mineral de la dentina al realizar el protocolo de irrigación durante 5 min con los agentes quelantes EDTA al 17% y HEBP al 18%.

2.- Los resultados de FTIR-ATR sugieren que si hubo disminución del contenido mineral de la dentina al realizar el protocolo de irrigación durante 10 min con los agentes quelantes EDTA al 17% y HEBP al 18%.

3.- A partir de los espectros de FTIR-ATR de las muestras expuestas a 10 min de irrigación con EDTA al 17% se observó que estas exhibieron una mayor disminución del contenido mineral de la dentina que el presentado en las muestras expuestas al HEBP 18% durante el mismo tiempo de irrigación.

4.- A partir de los resultados obtenidos en este proyecto de investigación se puede sugerir al HEBP como una alternativa al EDTA para su empleo como agente quelante en el tratamiento de conductos.

## XII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda la realización del estudio con un número mayor de muestras.
- Por otro lado, se podría realizar la evaluación de los cambios del contenido inorgánico con la utilización de irrigación continua (mezcla de agentes irrigantes) con NaOCl y HEBP.
- También se podría utilizar una concentración menor de HEBP (9%) para evaluar los cambios en el contenido mineral durante 10 min.
- Para complementar este estudio se podría realizar una evaluación de las propiedades mecánicas de la dentina con el análisis de fractura después de los protocolos de irrigación

### XIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Endodontists AA of. Glossary of Endodontic Terms 2016. Gloss Endod Terms. 2015;9:43.
2. Kırıcı D, Demirbuga S, Karataş E. Micro-computed Tomographic Assessment of the Residual Filling Volume, Apical Transportation and CF after R with R and RBS in CRCJE 2020;46(2):238–43. No Title.
3. Sen BH, Wesselink PR TM. Smear Layer Phenomena .Pdf. 1995. p. 28:141-8.
4. Goleman, daniel; boyatzis, Richard; Mckee A, Perdana. COHEN Vías de la pulpa. J Chem Inf Model. 2018;53(9):1689–99.
5. Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y. Irrigation in Endodontics. Dent Clin North Am. 2010;54(2):291–312.
6. Siqueira JF, Rôças IN. Clinical Implications and Microbiology of Bacterial Persistence after Treatment Procedures. J Endod. 2008;34(11).
7. Versiani MA, Basrani B, Sousa-Neto MD. The root canal anatomy in permanent dentition. The Root Canal Anatomy in Permanent Dentition. 2018. 1–425 p.
8. Zehnder M, Schmidlin P, Sener B, Waltimo T. Chelation in root canal therapy reconsidered. J Endod. 2005;31(11):817–20.
9. Soares J GF. Endodoncia. Técnica y Fundamentos. 1ra ed. 2003. 128–140p.
10. Liñán F, González P, Ortiz V, Ortiz G, Mondragón B, Guerrero L. Estudio in vitro del grado de erosión que provoca el EDTA sobre la dentina del conducto radicular. Rev Odontol Mex [Internet]. 2012;16(1):8–13. Available from: <http://new.medigraphic.com/cgi-bin/resumen.cgi?IDARTICULO=31168>

11. Siqueira JF Jr, Rocas IN, Favieri A, Lima KC, Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2,5% and 5,25% sodium hypochlorite, 2000, J. Endod; 2000 26(6):331-4. 4 1.
12. Ultradent products [Internet]. [cited 2021 Sep 3]. Available from: <https://ultradentla.wordpress.com/>
13. HÜlsman M. Effects of mechanical instrumentation and chemical irrigation on the root canal dentin and surrounding tissues. Endodontic topics. 2013;29:55,86.
14. Markus Haapasalo YS. Current therapeutic options for endodontic biofilms,. Endodontic topics. 2012;22:79,89.
15. Hatice DogÄn SÇ. Effects of chelating agents an sodium hypochlorite on mineral content of root dentin. Journal of Endodontics. 2001;27(9):578,80.
16. Zehnder M. Root Canal Irrigants. J Endod. 2006;32(5):389–98.
17. Bosaid F, Aksel H, Makowka S, Azim AA. Surface and structural changes in root dentine by various chelating solutions used in regenerative endodontics. Int Endod J. 2020;53(10):1438–45.
18. Marchesan MA, Júnior BP, de Freitas Afonso MM, Sousa-Neto MD, Paschoalato C. Chemical analysis of the flocculate formed by the association of sodium hypochlorite and chlorhexidine. Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology. 2007;103(5):2006–8.
19. Paracloroanilinas en Endodoncia [Internet]. [cited 2021 Sep 1]. Available from: <https://www.endomurcia.com/paracloroanilinas-endodoncia>
20. Ulusoy, Mantı A, Çelik B. Nanohardness reduction and root dentine erosion after final irrigation with ethylenediaminetetraacetic, etidronic and peracetic acids. Int Endod J. 2020;53(11):1549–58.
21. Tartari T, Bachmann L, Zancan RF, Vivan RR, Duarte MAH, Bramante CM. Analysis of the effects of several decalcifying agents alone and in combination with sodium hypochlorite on the chemical composition of dentine. Int Endod J. 2018;51:e42–54.

22. Ácido etidróico [Internet]. [cited 2021 Sep 1]. Available from: [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Etidronic\\_acid](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Etidronic_acid)
23. Rath PP, Yiu CKY, Matinlinna JP, Kishen A, Neelakantan P. The effect of root canal irrigants on dentin: a focused review. *Restor Dent Endod*. 2020;45(3):1–11.
24. Pascon FM, Kantovitz KR, Sacramento PA, Nobre-dos-Santos M, Puppini-Rontani RM. Effect of sodium hypochlorite on dentine mechanical properties. A review. *J Dent*. 2009;37(12):903–8.
25. Tjäderhane L, Carrilho MR, Breschi L, Tay FR, Pashley DH. Dentin basic structure and composition-an overview. *Endod Top*. 2009;20(1):3–29.
26. KISHEN A. Mechanisms and risk factors for fracture predilection in endodontically treated teeth. *Endod Top*. 2006;13(1):57–83.
27. Suprastiwi E. Materiales bioactivos al alcance. Tratamiento de conservación dental. 2018. 21–22 p.
28. Hülsmann M. Effects of mechanical instrumentation and chemical irrigation on the root canal dentin and surrounding tissues. *Endod Top*. 2013;29(1):55–86.
29. Mai S, Kim YK, Arola DD, Gu L sha, Kim JR, Pashley DH, et al. Differential aggressiveness of ethylenediamine tetraacetic acid in causing canal wall erosion in the presence of sodium hypochlorite. *J Dent [Internet]*. 2010;38(3):201–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2009.10.004>
30. Medina Guardado C, Navarro Gómez MA. Fractura radicular vertical. *Rev la Asoc Dent Mex*. 2015;72(6):329–32.
31. Morales-Cáceres LF, Reyes-Montenegro SI, Álvarez-Vanegas SJ, Hernández-Vigueras S. Resistencia a la Fractura de Dientes Tratados Endodónticamente Obturados con Selladores Biocerámicos Versus Selladores Resinosos. Revisión Sistemática. *Int J Odontostomatol*. 2019;13(1):31–9.
32. Mohamed MA, Jaafar J, Ismail AF, Othman MHD, Rahman MA. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy [Internet]. Membrane Characterization.

Elsevier B.V.; 2017. 3–29 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-63776-5.00001-2>

33. Berthomieu C, Hienerwadel R. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Photosynth Res.* 2009;101(2–3):157–70.

34. ULTRA X [Internet]. 01 mayo de 2022. Available from: <https://tomident.com/product/ultra-x-ultrasonic-endodontic-activator/>

35. Zhang K, Kim YK, Cadenaro M, Bryan TE, Sidow SJ, Loushine RJ, et al. Effects of Different Exposure Times and Concentrations of Sodium Hypochlorite/Ethylenediaminetetraacetic Acid on the Structural Integrity of Mineralized Dentin. *J Endod* [Internet]. 2010;36(1):105–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2009.10.020>

36. Cobankara FK, Erdogan H, Hamurcu M. Effects of chelating agents on the mineral content of root canal dentin. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology* [Internet]. 2011;112(6):e149–54. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tripleo.2011.06.037>

37. Tartari T, Guimarães BM, Amoras LS, Duarte MAH, Silva e Souza PAR, Bramante CM. Etidronate causes minimal changes in the ability of sodium hypochlorite to dissolve organic matter. *Int Endod J.* 2015;48(4):399–404.

38. Rath PP, Yiu CKY, Matinlinna JP, Kishen A, Neelakantan P. The effects of sequential and continuous chelation on dentin. *Dent Mater* [Internet]. 2020;36(12):1655–65. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.dental.2020.10.010>

39. Spanó JCE, Silva RG, Guedes DFC, Sousa-Neto MD, Estrela C, Pécora JD. Atomic Absorption Spectrometry and Scanning Electron Microscopy Evaluation of Concentration of Calcium Ions and Smear Layer Removal With Root Canal Chelators. *J Endod.* 2009;35(5):727–30.

40. Çalt S, Serper A. Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. *J Endod.* 2002;28(1):17–9.

41. Goldberg F, Spielberg C. The effect of EDTA and the variation of its working time analyzed with scanning electron microscopy. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol.* 2000;53(1):74–7.