

Avaliação do efeito do EDTA, CDTA e EGTA sobre a microdureza da dentina radicular humana. Estudo *in vitro*.

Evaluation of the effect of EDTA, CDTA and EGTA on the microhardness of human root dentine. In vitro study.

Durvalino OLIVEIRA¹, Fábio L. M. PEDRO², Álvaro H. BORGES³, Iussif MAMEDE NETO⁴, Jesus D. PÉCORÁ⁵, Antônio M. CRUZ FILHO⁵

1 - Mestre em Endodontia pela Universidade de Ribeirão Preto e Professor de Endodontia da Universidade de Cuiabá.

2 - Doutor em Endodontia pela Universidade de São Paulo e Professor de Endodontia da Universidade de Cuiabá.

3 - Doutor em Endodontia pela Universidade de Ribeirão Preto e Professor de Endodontia da Universidade de Cuiabá.

4 - Mestre em Ciências Biológicas pelo Instituto de Ciências Biológicas da UFG e Professor da Disciplina de Endodontia da UNIP/DF.

5 - Livre-Docente pela Universidade de São Paulo e Professor da USP-Ribeirão Preto.

RESUMO

Objetivo: Estudou-se a ação das soluções de EDTA 17%, CDTA 17% e EGTA 17% sobre a microdureza da dentina radicular. **Material e métodos:** Foram utilizados cinco dentes incisivos centrais superiores humanos, recém-extraídos, os quais tiveram suas coroas seccionadas na junção cimento-esmalte e posteriormente desprezadas. As raízes foram incluídas em acrílico de rápida polimerização, adaptadas à máquina de corte e seccionadas transversalmente de um em um milímetro. O primeiro corte foi desprezado e o segundo dividido em quatro quadrantes. Cada quarto de dentina foi colocado sobre um disco de resina acrílica, obtendo-se quatro corpos-de-prova para cada raiz. Cinqüenta microlitros da solução a ser testada foram depositados sobre o corpo-de-prova por meio de uma pipeta micrométrica,

permanecendo por cinco minutos. A medição da microdureza da dentina foi obtida em um aparelho de dureza *Vickers* com peso de cinqüenta gramas de carga e tempo de quinze segundos de aplicação. **Resultados:** Após análise estatística, os resultados mostraram que todas as soluções testadas foram efetivas quanto à redução da microdureza dentinária, mas estatisticamente diferentes entre si ($p < 0.05$). A solução de EGTA 17% promoveu maior redução, seguida pela solução de CDTA 17%. A solução de EDTA 17% foi a menos efetiva. **Conclusão:** Pode-se concluir que as soluções quelantes testadas no experimento foram efetivas quanto à redução da microdureza dentinária.

PALAVRAS-CHAVE: Endodontia, Dentina, Microdureza Dentinária.

INTRODUÇÃO

A ação física dos instrumentos endodônticos, excisionando a dentina do canal principal, associada à ação química das soluções irrigantes, promovendo a solvência e arraste de tecidos, possibilitam a remoção de remanescentes de tecidos orgânicos e/ou inorgânicos encontrados no interior do sistema de canais radiculares¹⁻³. O sucesso da terapia endodôntica depende da técnica e qualidade da instrumentação, irrigação, desinfecção e obturação trimimensional^{4,5}. A instrumentação mecânica dos canais radiculares, tanto com instrumentos manuais quanto rotatórios, produz *smear layer*, obliterando os túbulos dentinários⁶. Para remoção da camada aderida às paredes dentinárias, várias soluções têm sido testadas, facilitando a ação da medicação intracanal, ou promovendo maior união entre a dentina do canal radicular e o material obturador⁷⁻⁹.

A quelação é um processo físico-químico que leva à absorção de íons multivalentes positivos por substâncias químicas específicas e de maneira particular na dentina, o agente reage com os íons de cálcio dos cristais de hidroxiapatita⁴. Podem ocorrer mudanças na relação do conteúdo mineral, alterando a proporção original de componentes orgânicos e inorgânicos e consequente

redução da microdureza¹⁰. Mudanças no conteúdo mineral da dentina radicular também afetam negativamente a capacidade de vedação e a adesão dos materiais dentários, tais como cimentos resinosos e cimentos endodônticos¹¹. Vários estudos têm mostrado que EDTA (ácido etilenodiaminotetracético sal dissódico) é capaz de diminuir a dureza da dentina radicular^{1,12,13}.

Classicamente, a solução de hipoclorito de sódio alternada com EDTA promove a completa remoção da *smear layer* do canal radicular^{2,14-16}. O aumento da permeabilidade dentinária promovido pelo EDTA alternado com hipoclorito de sódio é maior do que quando utilizadas as soluções isoladamente^{5,15,17}. Em relação aos diferentes tempos de aplicação, a ação quelante é iniciada no primeiro minuto de contato da solução com a dentina, sendo que microdureza dentinária é diminuída em função do tempo de aplicação da solução^{16,18,19}.

Na área da Medicina, pesquisas têm sido realizadas no sentido de investigar agentes quelantes capazes de capturar metais pesados que contaminem as pessoas²⁰. Para essa finalidade têm sido usados o EGTA (ácido etileno glicol-bis (b-amino-etil-eter) N,N,N',N'-tetra-acético) e o CDTA (ácido ciclohexano-1,2-diaminotetra-acético). No campo de ação da endodontia, as ações

do EDTAC (ácido etilenodiamino tetra-acético com cetavlon) a 15%, CDTA a 1% e EGTA a 1% sobre a microdureza dentinária têm sido avaliadas, não observando diferenças quanto ao poder de descalcificação, apesar da diferença de concentração entre as soluções^{5,9,20}.

Desta maneira, fica claro que os agentes quelantes facilitam a fase de instrumentação do canal radicular, uma vez que diminuem a microdureza dentinária, removendo a *smear layer*^{7,8}. Para que uma nova solução seja utilizada na prática clínica, de forma segura e eficiente, há necessidade que se conheça suas propriedades por meio de pesquisas e estudos direcionados. Foi objetivo desse trabalho avaliar a ação dos quelantes EDTA 17%, EGTA 17% e CDTA 17% sobre a microdureza da dentina radicular humana.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados cinco incisivos centrais superiores humanos recém-extraídos e mantidos em recipiente com timol a 1% até o momento da realização do experimento. As coroas dentais foram seccionadas por meio de discos de disco de diamante (KG Sorensen, Zenith Dental ApS, Agerskov, Dinamarca), acoplados à peça de mão em baixa rotação (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil). Estas coroas foram desprezadas aproveitando-se somente a porção radicular, a qual foi mensurada em toda sua extensão por meio de um paquímetro digital (Mitutoyo Sul Americana Ltda, Suzano, SP, Brasil), com a finalidade de estabelecer os limites entre os terços cervical, médio e apical. Apenas a porção cervical de cada raiz foi selecionada, sendo posteriormente incluída em acrílico de rápida polimerização, a fim de formar um bloco regular, que possibilitou a adaptação à máquina de corte de tecido duro. O conjunto formado entre o terço cervical e resina foi fixado por duas garras posicionadas perpendicularmente a um disco de diamante de 500 micrômetros de espessura. Foi acoplado um dispositivo micrométrico manual semelhante a um relógio junto à haste das garras de fixação, o qual permitiu o avanço controlado do bloco de resina de milímetro em milímetro. O corte da raiz foi realizado sob refrigeração à água para impedir o aquecimento da dentina e do acrílico.

Para cada terço cervical foi possível obter 3 cortes de dentina com espessura de 1 milímetro cada. O corte número dois foi, então, deslocado da resina que o continha e armazenado em um recipiente plástico contendo gazes umedecidas para manter o disco de dentina hidratado. Posteriormente, cada disco de dentina foi dividido em quatro quadrantes por meio de bisturi e auxílio visual de uma lupa (Estek, São Paulo, SP, Brasil) com aumento de 30X. Cada quadrante foi novamente incluído em acrílico de rápida polimerização, obtendo-se, assim, 4 corpos de prova por dente. Durante a inclusão dos quadrantes, tomou-se o cuidado de colocar a face cervical voltada para a parte externa do corpo de prova. Esta superfície externa foi lixada com lixas d'água de granulações 400, 500 e 600 até obtenção de corpo de prova liso e regular para, em seguida, serem polidos com disco de feltro umedecido associado à pasta de alumínio (Alpha micropolish 10 – Union Carbide, Nova Iorque, NY, Estados Unidos).

Por final, os corpos de prova foram acondicionados em frascos com água destilada e deionizada devidamente identificados

de acordo com os dentes, até o momento da mensuração da microdureza.

Para medir a microdureza, um corpo de prova referente a cada dente recebeu, por meio de uma micropipeta automática, 50µl da solução a ser testada, a saber: EDTA 17% (Biodinâmica, Quím. e Farm., Ibiporã-PR, Brasil), CDTA 17% (SIGMA Chemical CO., St.Louis, USA) e EGTA 17% (SIGMA Chemical CO., St.Louis, USA). A água destilada e deionizada foi utilizada como solução controle. Após 5 min de aplicação, os corpos de prova foram lavados em água destilada e deionizada, secos com gaze e levados ao aparelho de medição da microdureza Vickers (Wolpert 121, Ludwigshafen, Alemanha), utilizando-se carga de 50 g por 15 s. A princípio, para cada dente, foi feita a medição do primeiro quadrante de dentina onde a solução controle foi aplicada por 5 min. Posteriormente, realizou-se a leitura do segundo corpo de prova, do mesmo corte, após aplicação da solução de EDTA 17% por 5 min. Na seqüência, foi feito a leitura do terceiro corpo de prova do mesmo corte, após a aplicação da solução de EGTA 17% por 5 min. Por último, a leitura do quarto corpo de prova, ainda do mesmo corte, após a aplicação da solução de CDTA 17% por 5 min. Para cada corpo de prova foi possível obter 12 medidas, provenientes da mensuração das diagonais (mossas) formadas pelas pontas de diamante na superfície de dentina. Essas medidas foram anotadas em um prontuário e posteriormente transformadas em dureza Vickers, com auxílio de uma tabela de transformação.

Com os valores já convertidos em dureza de Vickers, foram recortados pedaços de papel em tamanho único, onde as medidas correspondentes ao valor de cada corpo de prova foram anotadas. A cada 5 números sorteados, foi obtida uma média entre as medidas, e isto se repetiu até a obtenção de 5 médias para cada dente, o que representou a microdureza dentinária, em diferentes áreas. Desta forma, o fator região do corpo de prova não interferiu nos resultados.

Os resultados foram submetidos à análise por meio do "software" estatística GMC 8.1, elaborado pelo Prof. Dr. Geraldo Maia Campos. Inicialmente, os dados originais foram submetidos ao teste de normalidade, no sentido de adequar o melhor teste estatístico a ser aplicado. Verificou-se que as amostras apresentaram distribuição normal e, por isso, foi realizado a análise de variância ANOVA. Com o teste complementar de Tukey verificou-se quais materiais foram estatisticamente diferentes entre si. O nível de significância adotado foi de 5% ($\alpha=0,05$).

RESULTADOS

Os valores médios que se referem à microdureza da dentina estão apresentados na tabela 1.

O teste de Tukey mostrou haver diferença estatística ($p<0.05$) entre as soluções testadas (EDTA, EGTA e CDTA) e a solução controle (água destilada e deionizada). A solução de EGTA 17% promoveu maior redução ($p<0.05$) da microdureza da dentina seguida pela solução de CDTA 17%. A solução de EDTA 17% apresentou os menores valores de redução ($p<0.05$), conforme Tabela 2.

Tabela 1. Valores médios para cada dente da microdureza Vickers da dentina.

Solução	Água (destilada e deionizada)	EDTA 17%	EGTA 17%	CDTA 17%
Dente				
01	49,66±0,21	43,77±0,72	37,00±0,74	39,38±0,30
02	43,61±0,63	35,76±0,39	32,88±0,67	33,28±0,26
03	49,86±0,60	42,64±0,46	35,82±0,54	37,58±0,45
04	46,08±0,62	40,54±0,55	35,17±0,24	37,16±0,44
05	36,00±0,46	31,88±0,33	27,64±0,34	28,77±0,28

Tabela 2. Comparação entre as soluções testadas Teste de Tukey.

Soluções	Médias	Fator de variação
EGTA 17%	33,70 a	0,4556
CDTA 17%	35,24 b	
EDTA 17%	38,92 c	
Água destilada e deionizada	45,04 d	

Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significantes entre as soluções ($p < 0,05$).

DISCUSSÃO

Para o preparo químico-mecânico do sistema de canais radiculares é fundamental a ação dos instrumentos associados com uma substância irrigadora que facilite a limpeza do sistema de canais radiculares²¹. Diferentes substâncias químicas têm sido propostas e estudadas, com a finalidade de conseguir a solução irrigante ideal^{7,8}. Na prática endodôntica, soluções quelantes são usados como coadjuvantes ao preparo, principalmente em situações clínicas, nas quais encontram-se canais estreitos, obliterados e ou calcificados^{12,14-16}.

Pesquisas têm sido realizadas dentro da especialidade endodôntica, procurando identificar, cada vez mais e melhor, o uso do EDTA^{2,15,16}. Suas associações com tensoativos, seja catiônicos ou aniônicos, promovem a redução da tensão superficial, favorecendo a umectação das paredes dentinárias, aumentando, assim, a área de contato entre a solução e a dentina²². A quelação de íons cálcio por meio da utilização do EDTA começa a ser eficiente quando pH esta acima de 8,0, ou seja, em pH alcalino²³. Considerando o fator tempo, após o primeiro minuto de aplicação do EDTAC sobre a dentina radicular, já se observa redução da microdureza dentinária e que esta varia de modo inversamente proporcional ao tempo de aplicação^{16,19}.

Na Fisiologia médica, com objetivo de se obter meios líquidos livres de íons cálcio, são utilizados vários agentes quelantes, muitos dos quais são específicos para o cálcio, como o EGTA e CDTA²⁴⁻²⁶. A escolha pela solução de EDTA 17%, neste estudo, deve-se ao fato desta solução ser de fácil acesso no mercado odontológico, largamente empregada na clínica diária e conhe-

cida mundialmente^{2,14-16}. Os quelantes CDTA 1% e EGTA 1% têm efeito redutor sobre a microdureza da dentina radicular^{3,19,20}. As soluções de EDTA 17%, CDTA 17% e EGTA 17% empregadas neste experimento foram manipuladas em pH neutro²⁷. A água destilada e deionizada foi adotada como controle, uma vez que esta solução não tem ação sobre o tecido inorgânico, não interferindo, portanto, na microdureza da dentina.

Para a medida da microdureza Vickers foi utilizada carga de 50 g durante 15 s, permitindo maior nitidez das marcas deixadas na dentina pela ponta de diamante, facilitando a leitura^{3,19,20,28}. O volume padronizado da solução foi de 50 µl e o tempo de contato entre a solução e a dentina de 5 min¹⁹.

Nesse estudo, os resultados mostraram que a solução de EGTA 17% foi a mais eficiente em reduzir a microdureza dentinária, seguida pela solução de CDTA 17% e EDTA 17%. Em outro estudo foi possível observar que as soluções de CDTA 1%, EGTA 1% e EDTAC 15%, atuam de modo estatisticamente semelhante sobre a microdureza da dentina, ou seja, independente da solução utilizada, o efeito redutor na microdureza da dentina é o mesmo³. O aumento da concentração entre as soluções, nem sempre mantém as devidas proporções em relação à ação quelante, uma vez que, neste estudo, as mesmas soluções em concentrações maiores (EGTA 17% e CDTA 17%) apresentaram diferença na forma de atuação. A solução irrigante pode apresentar maior ou menor poder de ação, em função da sua concentração, mesmo que a diferença entre as concentrações seja pequena^{3,20}.

As soluções quelantes de EGTA e CDTA podem ser uma alternativa viável para a Endodontia, porém é imprescindível que se conheça suas propriedades físico-químicas e biológicas, antes de serem utilizadas. A busca do aprimoramento deve ser constante, portanto novas pesquisas devem ser realizadas no intuito que outras soluções em diferentes concentrações possam ser utilizadas na Odontologia.

CONCLUSÕES

Com base na metodologia empregada e analisando os resultados obtidos, pode-se concluir que as soluções quelantes testadas no experimento foram efetivas quanto à redução da microdureza dentinária. No tempo padrão de 5 min, as soluções agiram estatisticamente diferentes sobre a microdureza dentinária. Sobre a efetividade da redução da microdureza dentinária concluiu-se que o EGTA foi o mais efetivo, seguido do CDTA. O EDTA apresentou menor efetividade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. 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.* 2004;30(11):792-5
02. Slutzky-Goldberg I, Maree M, Liberman R, Heling I. Effect of sodium hypochlorite on dentin microhardness. *J Endod.* 2002;28(4):311-2.
03. Cruz-Filho AM, Sousa-Neto MD, Saquy PC, Pecora JD. Evaluation of the effect of EDTAC, CDTA, and EGTA on radicular dentin microhardness. *J Endod.* 2001;27(3):183-4.
04. Ballal NV; Mala K; Bhat KS. Evaluation of the effect of maleic acid and

- ethylenediaminetetraacetic acid on the microhardness and surface roughness of human root canal dentin. *J Endod.* 2010;36(8):1385-8.
05. Sayin TC, Serper A; Cehreli ZC, Otlu HG. The effect of EDTA, EGTA, EDTAC, and tetracycline-HCl with and without subsequent NaOCl treatment on the microhardness of root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007;104(3):418-24.
 06. Sen BH, Wesselink PR, Tu' rku' n M. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. *Int Endod J.* 1995;28(3):141-8.
 07. Torabinejad M, Khademi AA, Babagoli J, et al. A new solution for the removal of the smear layer. *J Endod.* 2003;29(3):170-5.
 08. Scelza MF, Pierro V, Scelza P, Pereira M. Effect of three different time periods of irrigation with EDTA-T, EDTA and citric acid on smear layer removal. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;98(4):499-503.
 09. Calt S, Serper A. Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. *J Endod.* 2002;28(1):17-9.
 10. Arends J, ten Bosch JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res.* 1992;71 Spec N°:924-8.
 11. Rotstein I, Dankner E, Goldman A, Heling I, Stabholz A, Zalkind M. Histochemical analysis of dental hard tissues following bleaching. *J Endod.* 1996;22(1):23-5.
 12. De-Deus G, Paciornik S, Mauricio MH. Evaluation of the effect of EDTA, EDTAC and citric acid on the microhardness of root dentine. *Int Endod J.* 2006;39(5):401-7.
 13. Yu Qing, Akita Y, Kawano S, et al. Cleaning efficacy and dentin microhardness after root canal irrigation with a strong acid electrolytic water. *J Endod* 2006;32:1102-6.
 14. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod.* 2006;32(5):389-98.
 15. Eldeniz AU; Erdemir A; Belli S. Effect of EDTA and citric acid solutions on the microhardness and the roughness of human root canal dentin. *J Endod.* 2005;31(2):107-10.
 16. Guerisoli DM, Marchesan MA, Walmsley AD, Lumley PJ, Pecora JD. Evaluation of smear layer removal by EDTAC and sodium hypochlorite with ultrasonic agitation. *Int Endod J.* 2002;35(5):418-21.
 17. Pécora JD; Sousa Neto MD; Saquy PC; Silva RG; Cruz Filho AM. Effect of Dakin's and EDTA solutions on dentin permeability of root canals. *Braz. Dent. J.* 4 (2): 79-84, 1993.
 18. Zhang K, Kim YK, Cadenaro M, et al. Effects of different exposure times and concentrations of sodium hypochlorite/ethylenediaminetetraacetic acid on the structural integrity of mineralized dentin. *J Endod.* 2010;36(1):105-9.
 19. Cruz Filho AM, Silva RG, Pécora JD. Acción del EDTAC en la microdureza de la dentina radicular, en diferentes tiempos de aplicación. *RevFola/ Oral* 1996;2:82-90.
 20. Cruz-Filho AM, Paula EA, Pecora JD, Sousa-Neto MD. Effect of different EGTA concentrations on dentin microhardness. *Braz Dent J.* 2002;13(3):188-90.
 21. Perez F; Rouqueyrol-Pourcel, N. Effect of a low-concentration EDTA solution on root canal walls: A scanning electron microscopic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005;99(3):383-7.
 22. Estrela, C. Endodontic science. São Paulo: Artes Médicas Dentistry; 2009. 1223p.
 23. Masterton WL, Hurley CN. Chemistry: principles & reactions. 5th ed. Belmont: Brooks Cole; 2003. 756p.
 24. Cailard O; Moreno H; Schwaller B; Liano I; Célio MR; Marty A. Role of the calcium-binding protein parvalbumin in short-term synaptic plasticity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97(24):13372-7.
 25. Sakaba T; Neher E. Quantitative relationship between transmitter release and calcium current at the calyx of held synapse. *J Neurosci.* 2001;21(2):462-76.
 26. Lovik G; Larsen SK; Iversen JG; Rolstad B. C1qRp elicits a Ca++ response in rat NK cells but does not influence NK-mediated cytotoxicity. *Scand J Immunol.* 2001;53(4):410-5.
 27. Østby NB. Chelation in root canal therapy. Ethylenediamine tetraacetic acid for cleansing and widening of root canals. *Odont Tidskrift* 1957;65:3-11
 28. Saquy PC, Maia Campos G, Sousa Neto MD, Guimarães LF, Pécora JD. Evaluation of chelating action of EDTA in association with Dakin's solution. *Braz Dent J.* 1994;5(1):65-70.

ABSTRACT

Objective: In this work the action of 17 % EDTA solution, CDTA 17 % solution and EGTA 17% solution had been studied on human radicular dentin microhardness. **Material and methods:** Five freshly extracted human maxillary incisors were transversely sectioned at the cement-enamel junction; the crowns were discarded. The roots were embedded in blocks of resin polymerization rapidly, which were adapted in the cut machine and sectioned transversely in 1 to 1 millimeter. The first cut was discarded and the second divided into four quadrants. Each quarter of dentin was placed on a disc of acrylic resin, resulting in four samples for each root. Fifty microliters of the tested solutions were deposited on the specimen using a

micrometer pipette, staying for five minutes. The measurement of dentin microhardness was in a unit of Vickers hardness with 50 grams of weight and load time of 15 s of application. **Results:** After statistical analysis, results showed that all solutions were effective in reducing dentin microhardness, but statistically different from each other ($p < 0.05$). The 17 % EGTA solution was more effective, followed by 17 % CDTA solution. 17 % EDTA solution was the less effective. **Conclusion:** It was possible to conclude that all the chelants solutions were effective in reduction of the radicular dentin microhardness.

KEYWORDS: Endodontics, Dentin, Dentin Permeability.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Prof. Dr. Antônio Miranda da Cruz Filho
Praça Pompílio Conceição, casa 10, Residencial Vila Aliança,
Jd. Botânico, CEP 14.021-594, Ribeirão Preto - SP, Brasil
Telefone: (16) 3234-9551, Fax: (16) 3602-4792.