

** Emanuela Serra
* Iva Torrese
** Giulia Malagnino
** Giuseppe Spoto

Università degli Studi di Chieti
"G. D'Annunzio"
Dipartimento di Scienze
Odontostomatologiche
Direttore: Prof. Sergio Caputi
* Cattedra di Endodonzia
Titolare: Prof. Vito Antonio Malagnino
** Cattedra di Materiali Dentari e Chimica,
Prop. Biochimica
Titolare: Prof. Giuseppe Spoto

Corrispondenza:
Prof. Giuseppe Spoto
Dipartimento di Scienze
Odontostomatologiche
Università degli Studi di Chieti
"G. D'Annunzio"
Via dei Vestini, 31
66013 Chieti
Tel: +39 871 355 4066
Fax: +39 871 355 4079
Email: spoto@unich.it

Effetto solubilizzante di alcuni irriganti canalari sulla polpa di denti bovini

Solving effect of some root canal irrigants on bovine dental pulp

RIASSUNTO

L'obiettivo di questo studio *in vitro* è stato quello di valutare l'effetto solubilizzante degli irriganti canalari più utilizzati nella pratica clinica.

A tal scopo sono state utilizzate 23 polpe bovine sane trattate con: NaClO allo 0,5%, NaClO al 2,5%, NaClO al 5%, EDTA al 17%, H₂O distillata (utilizzata come controllo negativo).

L'effetto solubilizzante di ciascun irrigante è stato valutato ad 1, 5 e 10 minuti.

Per la valutazione quantitativa della solubilizzazione della polpa bovina da parte degli irriganti è stato utilizzato il metodo spettrofotometrico applicato al liquido risultante dopo l'immersione della polpa.

Dai risultati spettrofotometrici, espressi come percentuale di solubilizzazione, è emerso che, in assoluto, il maggior effetto di solubilizzazione era ottenuto con l'ipoclorito di sodio al 5%. L'effetto solubilizzante si è rivelato tempo-dipendente per ogni tipo di irrigante.

Pertanto, per una migliore detersione del sistema canalare, i nostri risultati mostrano che una concentrazione di NaClO al 5% offre un'ottima solubilizzazione della polpa. Da quanto emerso, concentrazioni inferiori al 2,5% possono essere utilizzate allungando i tempi di permanenza dell'irrigante nei canali. Una concentrazione allo 0,5% si è dimostrata insufficiente anche a tempi maggiori, aumentando il rischio di inadeguata detersione e disinfezione del sistema canalare.

Parole chiave:

Irrigazione canalare, ipoclorito di sodio.

ABSTRACT

The aim of this *in vitro* study was to evaluate the solubility effect of the root canal irrigants more frequently used in clinical practise.

In this study 23 bovine pulps, treated with 5% NaClO, 2,5% NaClO, 0,5% NaClO, 17% EDTA and distilled H₂O (used as negative control), were used.

Each irrigant solution was evaluated after 1, 5 and 10 minutes. For quantitative evaluation of the amount of bovine pulp solubilized, a spectrophotometric method, applied to the liquid that resulted from the pulp immersion, was used.

The spectrophotometric results, expressed in solubilization percentages, showed that the highest values of root canal cleaning were obtained using 5% NaClO, while the sample of NaClO 0,5% showed to be ineffective.

The effect is time-dependent for all the samples; so concentration of 2,5% can be used for longer times.

Key words:

Root canal irrigation, sodium hypochlorite.

INTRODUZIONE

Alcune soluzioni vengono definite irriganti quando assolvono alcune funzioni come quelle di dissolvere i residui di tessuto pulpare, digerire sostanze proteiche, possedere un'azione battericida e/o batteriostatica, essere innocue verso i tessuti periapicali. Al-

tre funzioni degli irriganti potrebbero essere quelle di sospendere i detriti dentinali formati durante la strumentazione, per facilitarne il deflusso verso il terzo coronale.

In questo studio sono stati presi in considerazione solo alcuni irriganti: l'ipoclorito di sodio (NaClO) ed il sale sodico dell'acido etilendiamminotetracetico (NaEDTA).

IPOCLORITO DI SODIO

L'ipoclorito di sodio è sicuramente l'irrigante più utilizzato in endodonzia, grazie alle sue proprietà di detersione e disinfezione del sistema canalare (1,2). La proprietà dell'NaClO di sciogliere tessuti organici è ben nota (3). L'ipoclorito di sodio svolge la sua azione solvente sui tessuti necrotici e sui frammenti di tessuto che hanno perso il loro apporto ematico, mentre risulterebbe inattivo nei confronti dei tessuti vitali irrorati (4). Alcuni Autori attribuiscono all'ipoclorito un'azione solubilizzante anche nei confronti dei tessuti vitali irrorati (5,6).

Un'altra caratteristica importante dell'ipoclorito è quella di possedere una bassa tensione superficiale che dovrebbe consentire la penetrazione dell'irrigante anche in zone non raggiungibili dagli strumenti, come ad esempio canali laterali, riassorbimenti, delta apicali.

L'ipoclorito di sodio possiede un'azione battericida. L'azione antibatterica risulta ben dimostrata, con effetti sia verso germi Gram-positivi che Gram-negativi (7).

Fonte di discussione in endodonzia è la concentrazione alla quale è consigliato l'uso dell'ipoclorito. Molti sono d'accordo circa l'uso di una concentrazione al 5,25%, in quanto secondo la loro opinione ci sarebbe un buon rapporto tra tossicità ed effetto batte-

ricida e una maggiore efficacia come solvente dei tessuti necrotici rispetto a concentrazioni più diluite (8). Hand R.E. e coll. (1) hanno dimostrato che l'NaClO al 5% esprime la sua massima capacità antibatterica e solubilizzante del tessuto pulpare. Affermano, inoltre, che non è possibile elevare ulteriormente la concentrazione dell'irrigante perché questo aumenta la sua tossicità che ne impedirebbe l'impiego. Altri sono invece favorevoli all'uso dell'ipoclorito a concentrazioni più basse, tra lo 0,5 e l'1%, per evitare effetti nocivi sul tessuto periapicale (9). Altri Autori suggeriscono un suo uso a concentrazioni comprese tra 2,5 e 3%, poiché a tali percentuali le proprietà fondamentali sono conservate e, nel contempo, si evitano gli effetti nocivi periapicali. Koskinen e coll. (10), valutando la dissoluzione pulpare in base alle differenze di peso a secco e confrontando il quantitativo di idrossiprolina, ritengono che concentrazioni di NaClO del 5% e del 2,5% abbiano un buon potere solvente, mentre ad una concentrazione dello 0,5% questo sia significativamente inferiore ed insufficiente alla detersione canalare.

Cunningham e coll. (11) hanno confrontato la capacità di dissolvere il collagene da parte dell'NaClO al 2,65% e al 5,25% a temperatura ambiente (21°C) e a temperatura corporea (37°C). L'NaClO al 2,65% (alla temperatura di 37°C) ha dimostrato la medesima capacità solvente dell'NaClO al 5,25% (sia a 21°C che a 37°C). Cunningham ha, inoltre, dimostrato che l'attività battericida dell'NaClO al 5,25% è identica alle temperature di 21°C e di 37°C. La temperatura, secondo questo studio, è importante per potenziare l'azione solvente dell'NaClO, mentre l'attività battericida è influenzata dalla concentrazione e dal tempo di contatto con i batteri.

I CHELANTI

L'uso delle soluzioni chelanti in endodonzia è suggerito dalla capacità di queste sostanze di legarsi chimicamente allo ione Ca^{++} e quindi dalla possibilità di demineralizzare la dentina facilitando il lavoro dell'endodontista (12,13).

L'uso di un chelante è raccomandato da molti Autori per rimuovere lo strato di fango dentinale (*smear layer*) che rimane spalmato sulla superficie del canale dopo che gli strumenti endodontici hanno completato la loro azione (14).

Tale strato che occlude i tubuli dentinali, e

pertanto ne diminuisce la permeabilità, è per lo più costituito da materiale inorganico e quindi non può essere rimosso dall'ipoclorito. A questo scopo possono essere utilizzati i chelanti come soluzioni di lavaggio finale. La sostanza più usata è l'acido etilendiamminotetracetico (EDTA) (15) nella forma di sale sodico, che combinandosi con gli ioni calcio dei cristalli di idrossiapatite si trasforma nel sale etilendiamminotetracetato di sodio e calcio.

La quantità di agente chelante richiesto dipende dalla superficie di contatto: più è grande l'area della superficie esposta, maggiore è la quantità di reazione.

Aumentando la quantità del reagente, la demineralizzazione aumenta fino a raggiungere un equilibrio, oltre il quale pur aumentando la quantità non vi è un corrispondente aumento della reazione, dando così origine alla cosiddetta autolimitazione dell'EDTA.

MATERIALI E METODI

Sono stati utilizzati per il nostro studio 26 incisivi centrali di bovini di età compresa tra 12-24 mesi. Il protocollo è stato approvato dal Comitato Etico.

Una volta estratti, i denti sono stati congelati a -20°C per 24 ore e sezionati longitudinalmente con frese diamantate cilindriche sotto abbondante irrigazione; quindi, le polpe sono state prelevate delicatamente con l'aiuto di uno specillo e di pinzette.

Subito dopo il prelievo, le polpe sono state sciacquate per 5 minuti in soluzione fisiologica, al fine di rimuovere il sangue in eccesso, e conservate in eppendorf a -24°C per 2 giorni, fino al momento del trattamento con le soluzioni irriganti.

Sono state selezionate polpe con un peso omogeneo di circa 100 mg per ridurre al massimo la variabilità tra i diversi gruppi. Sono state preparate le soluzioni irriganti alle diverse concentrazioni e le polpe, dopo essere state scongelate sequenzialmente, sono state trattate una per volta secondo il protocollo.

Le soluzioni irriganti di cui è stata valutata la capacità solubilizzante la polpa sono state: NaClO al 5%, NaClO al 2,5%, NaClO allo 0,5%, EDTA al 17%, acqua distillata usata come controllo negativo.

In dei becker di vetro sono stati introdotti 20 ml di ognuna delle soluzioni irriganti sot-

toposte alla prova, una polpa scongelata ed un piccolo magnete; quindi ogni becker è stato posto su un agitatore meccanico per rendere omogenea la soluzione dal momento del prelievo per tutto il tempo della prova fino al tempo stabilito.

Le soluzioni di ipoclorito di sodio sono state sottoposte a reazione chimica con modifica del pH prima al valore di 3.0 e successivamente al valore di 10.5 mediante temperatura, ultrasuoni ed ammoniaca. Questa procedura è stata eseguita per risolvere la ben nota instabilità molecolare (16,17).

L'effetto solubilizzante di ciascuna soluzione irrigante è stato valutato ad 1, 5 e 10 minuti. Al tempo determinato dal protocollo, con una pipetta di plastica è stato prelevato 1 ml di soluzione e versato in una provetta sterile. La soluzione è stata sottoposta ad una lettura allo spettrofotometro (HEWLETT PACKARD: HP-8453; sorgente luminosa: lampade al deuterio e tungsteno; rivelatore a serie di diodi) per la valutazione della solubilizzazione della polpa da parte dello specifico irrigante utilizzato.

Nel nostro studio, i campioni sono stati analizzati ad una lunghezza d'onda di 280 nm, che rappresenta il picco di assorbimento massimo degli aminoacidi aromatici quali la fenilalanina, la tirosina e il triptofano, da noi utilizzati come parametro di rilevazione delle proteine pulpari solubilizzate.

I risultati della valutazione spettrofotometrica sono mostrati nella Figura 1 e sono espressi come percentuale di tessuto pulpare solubilizzato rispetto ad uno di riferimento. La polpa di riferimento, dello stesso peso degli altri gruppi, è stata solubilizzata completamente attraverso un'idrolisi chimica esercitata da ipoclorito di sodio al 5% per 15 minuti e che pertanto ha fornito il valore del 100% di solubilizzazione. I valori percentuali hanno mostrato le differenze tra i vari gruppi.

RISULTATI

Dai risultati (Fig. 1) è emerso quanto segue: l'acqua distillata utilizzata come controllo negativo non ha mostrato alcun potere solvente sul tessuto pulpare a nessun tempo, come ci si aspettava.

I gruppi trattati con l'EDTA al 17% mostrano bassissimi valori di solubilizzazione: a 1 minuto si ha solo uno 0,5% di solubilizzazione, a 5 e 10 minuti aumenta di poco fino al 3%.

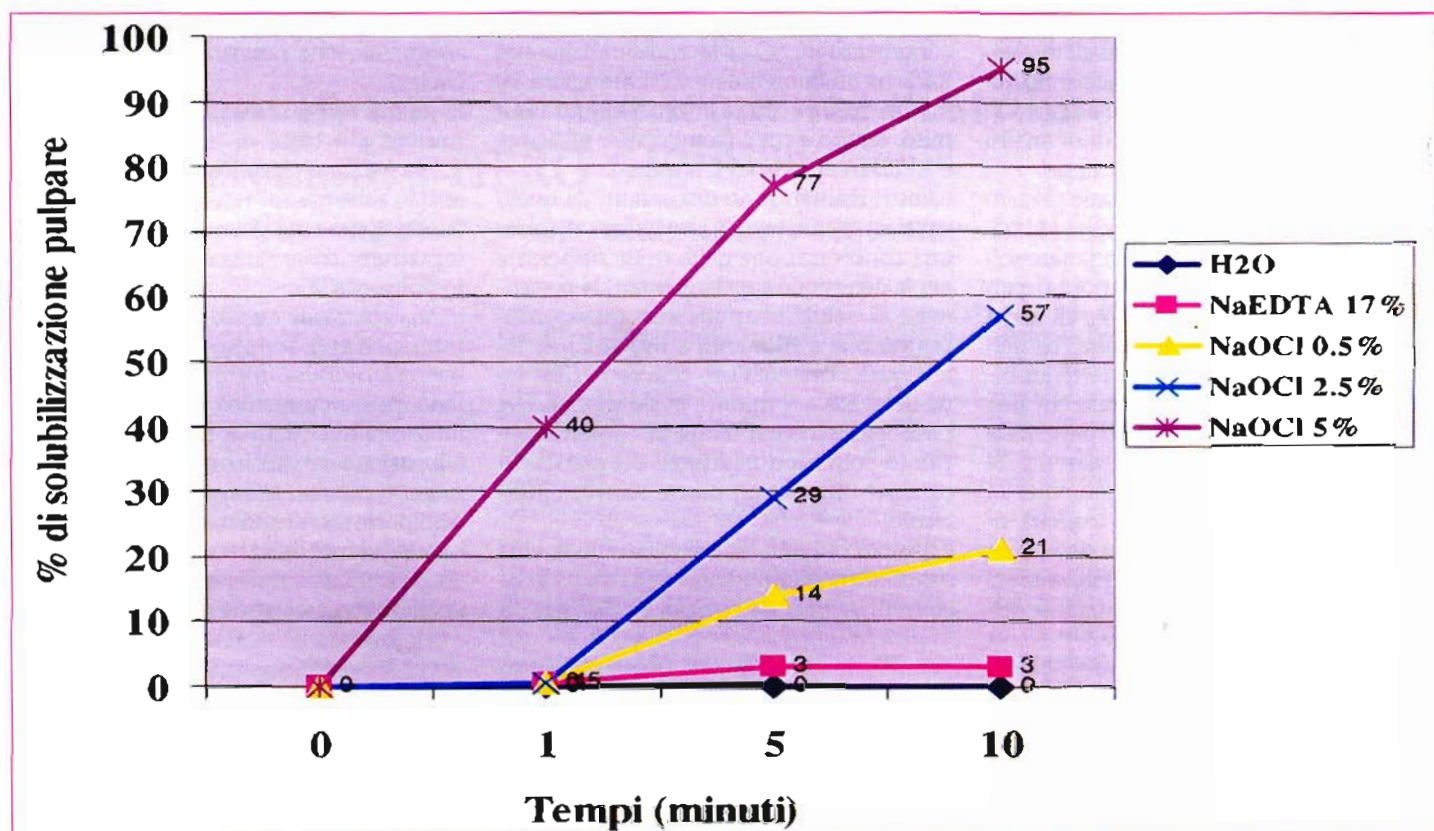


Fig. 1 - Effetto solubilizzante di diversi agenti irriganti

L'NaClO allo 0,5% presenta valori di solubilizzazione dello 0,5%, del 14% e del 21% ad 1, 5 e 10 minuti.

L'NaClO al 2,5% ha mostrato un potere solvente maggiore dei gruppi con l'acqua e con l'EDTA soprattutto a 5 e 10 minuti, rispettivamente 29% e 57%, mentre è trascurabile ad 1 minuto a cui si ha lo 0,5% di solubilizzazione pulpare. Il massimo potere solvente si è avuto nei gruppi trattati con l'NaClO al 5% in cui ad 1, 5 e 10 minuti si hanno rispettivamente il 40, 77 e 95% di solubilizzazione delle polpe bovine.

DISCUSSIONE

Questo studio *in vitro* ha voluto comparare, mediante valutazioni quantitative (spettrofotometria), l'effetto solubilizzante dell'NaClO a 3 diverse concentrazioni (0,5%, 2,5% e 5%), dell'NaEDTA al 17%, e dell'acqua distillata sulla polpa di denti bovini. L'effetto solvente di una soluzione irrigan-

te sul tessuto pulpare dipende dai seguenti fattori: concentrazione, pH, temperatura, tempo, frequenza dei lavaggi, agitazione meccanica, area di superficie del tessuto, tipo di tessuto (18). Attualmente molti Autori sono concordi nell'utilizzare durante la terapia canalare due soluzioni irriganti: l'NaClO, per le sue ben documentate proprietà solventi sul materiale organico e per la sua azione antibatterica, ed una soluzione di EDTA al 17% per la rimozione dei detriti inorganici (17).

Oltre alla concentrazione, l'altro parametro importante per il potere solvente che è stato valutato è il tempo (1, 5 e 10 minuti). Nonostante l'ipoclorito di sodio sia l'irrigante più utilizzato in endodonzia, tuttavia ben poco è riportato in letteratura riguardo il meccanismo di azione solvente sul tessuto pulpare e soprattutto sulle proprietà fisico-chimiche della soluzione irrigante dopo la solubilizzazione del materiale organico (19). In altri studi riportati in letteratura (19,20) sono state utilizzate polpe bovine, invece che polpe umane, affinché il tessuto pulpare residuo dopo il trattamento con gli irriganti fosse sufficiente per le determina-

zioni quantitative. Nel nostro studio sono state utilizzate polpe bovine non solo per ottenere materiale sufficiente per le determinazioni quantitative effettuate tramite spettrofotometria. In molti studi sono state messe in evidenza le differenze tra la polpa bovina ed umana (21). Nonostante le differenze sottolineate dalla letteratura, la polpa bovina si è dimostrata la più simile, da un punto di vista istologico, a quella umana rispetto a quella di altri animali come i ratti o i conigli (22). Per valutare le proprietà solventi degli irriganti canalari sul tessuto pulpare sono stati utilizzati vari metodi descritti in letteratura. Alcuni Autori, recentemente, hanno analizzato l'efficacia di diversi irriganti tramite valutazioni *qualitative* al S.E.M. sulle pareti canalari dopo trattamento, osservando il numero di tubuli dentinali e i residui organici visibili (15,19,23). Altri hanno valutato *quantitativamente* la solubilizzazione, basandosi sulle variazioni di peso dopo il trattamento (10) o tramite variazioni del pH del liquido risultante post-irrigazione (20-24).

L'originalità del nostro lavoro sta nell'aver valutato la solubilizzazione pulpare *quantitativa*.

tativamente, ma soprattutto nell'aver risolto tecnicamente le difficoltà legate all'instabilità molecolare dell'ipoclorito, che hanno impedito ad altri Autori di utilizzare il metodo spettrofotometrico o altri metodi di analisi biochimica, come l'elettroforesi su gel.

Dai risultati da noi ottenuti (come percentuale di solubilizzazione), è emerso chiaramente che l'NaClO al 5% ha un potere solvente sul tessuto pulpare superiore rispetto all'NaClO al 2,5% e allo 0,5%, all'EDTA al 17% ed ovviamente all'acqua, confermando quanto riportato dalla letteratura. Hand e coll. (1) hanno dimostrato che una concentrazione del 5% di NaClO presenta la massima capacità antibatterica e solvente sul tessuto pulpare, mantenendo comunque un buon rapporto tra efficacia e tossicità rispetto a concentrazioni più diluite.

Inoltre, dal nostro studio è emerso, come ci si aspettava, che l'effetto solubilizzante del-

l'NaClO è tempo-dipendente per le diverse concentrazioni. Così la concentrazione al 2,5% ha un buon potere solvente a 5 e a 10 minuti, mentre risulta insufficiente ad 1 minuto, tempo a cui è paragonabile all'acqua e all'EDTA al 17% ad 1 minuto.

I nostri risultati sono discordanti da quelli riportati da altri studi che hanno ritenuto una concentrazione dello 0,5% sufficiente per la detersione canalare; infatti la percentuale di solubilizzazione con questa concentrazione a 10 minuti è risultata inferiore a quella ottenuta con una concentrazione del 2,5% a 5 minuti, evidenziando che sarebbero necessari tempi di contatto ipoclorito-polpa non applicabili alla pratica clinica per ottenere un potere solvente sufficiente.

I risultati ottenuti da questo studio *in vitro* sottolineano l'importanza della scelta della concentrazione dell'irrigante (NaClO) in

funzione del tipo e quindi del tempo della strumentazione canalare (manuale o meccanica).

È, infatti, emerso chiaramente che concentrazioni più basse di irrigante (NaClO al 2,5%) possono essere compensate, nel loro effetto solvente sul tessuto pulpare, da abbondanti quantità di soluzione irrigante, ma soprattutto da prolungati tempi di contatto polpa-NaClO.

L'importanza di questo studio sta soprattutto nell'aver fornito un modello sperimentale riproducibile per l'utilizzo del metodo spettrofotometrico, permettendo la valutazione quantitativa dell'effetto di solubilizzazione pulpare in seguito all'utilizzo di irriganti canalari che spesso, come nel caso dell'ipoclorito di sodio, interferiscono con i metodi biochimici di analisi, costringendo gli studiosi a ripiegare su metodi meno attendibili o esclusivamente qualitativi.

BIBLIOGRAFIA

- Hand RE, Smith ML, Harrison JW. Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. *J Endod* 1978; 4: 60.
- Bystrom A, Sunqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J* 1985; 18: 35-44.
- De Fazio P. Endodonzia clinica. Ed. Masson (Milano), Italia 1997.
- Grey GC. The capabilities of sodium hypochlorite to digest organic debris from root canal, with emphasis on accessory canals. Ed. Boston University (Boston), USA 1970.
- Andersen M, Lund A. In vitro solubility of human pulp tissue in calcium hydroxide and sodium hypochlorite. *Endod Dent Traumatol* 1992; 8: 104-108.
- Abou-Rass M, Oglesby SW. The effects of temperature, concentration and tissue type on the solvent ability of sodium hypochlorite. *J Endod* 1981; 7: 376.
- Shih M, Marshall FJ, Rosen S. The bactericidal efficiency of sodium hypochlorite as an endodontic irrigant. *Oral Surgery* 1970; 29: 613-619.
- Gordon TM, Damato D, Christner P. Solvent effect of various dilutions of sodium hypochlorite on vital and necrotic tissue. *J Endod* 1981; 7: 466.
- Turkun M, Cengiz T. The effects of sodium hypochlorite and calcium hydroxide on tissue dissolution and root canal cleanliness. *Int Endod J* 1997; 30: 335-342.
- Koskinen KP, Stenv All H, Uitto VJ. Dissolution of bovine pulp tissue by endodontic solutions. *Scand J Dent Res* 1980; 88: 406-411.
- Cunningham WT, Balekjian AY. Effect of temperature on collagen-dissolving ability of sodium hypochlorite endodontic irrigant. *Oral Surg* 1980; 49: 175-177.
- Calt S, Serper A. Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. *J Endod* 2002; 28(1): 17-9.
- 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 Mar; 27(3): 183-4.
- Malagnino VA, D'Arcangelo C, Passariello P. Irrigazione canalare in corso di preparazione con strumenti in Ni-Ti. *Il Dent Mod* 2001; 10: 53-61.
- Goldman M, Goldman LB, Cavaleri R. The efficacy of several endodontic irrigant solutions: a scanning electron microscopic study. *J Endod* 1982; 8: 487-492.
- Clarkson RM, Moule AJ, Podlich HM. The shelf-life of sodium hypochlorite irrigating solutions. *Aust Dent J* 2001; 46(4): 269-76.
- Gambarini G, De Luca M, Gerosa R. Chemical stability of heated sodium hypochlorite endodontic irrigants. *J Endod* 1998; 24(6): 432-4.
- Svec TA, Harrison JW. Chemomechanical removal of pulpal and dentin debris with sodium hypochlorite and hydrogen peroxide vs normal saline solution. *J Endod* 1977; 3: 49-53.
- Yamada RS, Armas A. A scanning electron microscopic comparison of a high volume with several irrigating solutions. *J Endod* 1983; 9: 137-142.
- Spano J, Barbin EL, Santos TC. Solvent action of sodium hypochlorite on bovine pulp and physico-chemical properties of resulting liquid. *Braz Dent J* 2001; 12: 154-157.
- Yang SF, Rivera EM. Anaerobic tissue-dissolving abilities of calcium hydroxide and sodium hypochlorite. *J Endod* 1995; 21: 613-616.
- Baumgartner JC. Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for canal irrigation. *J Endod* 1992; 18: 605-612.
- Jose F, Siqueira JR. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2,5% and 5,25% sodium hypochlorite. *J Endod* 2000; 26: 331-335.
- Scelza MF, Antoniazzi JH. Efficacy of final irrigation - a scanning electron microscopic evaluation. *J Endod* 2000; 26: 355-358.