

EFFECT OF ACTIVATION OF A PROTOCOL OF IRRIGATION WITH LASER (ER, CR: YSGG), ON THE MICROHARDNESS OF ROOT DENTIN

EFFECTO DE LA ACTIVACIÓN DE UN PROTOCOLO DE IRRIGACIÓN CON EL LÁSER (ER, CR: YSGG), SOBRE LA MICRODUREZA DE LA DENTINA RADICULAR

Becerra P, Hernandez J, asesor científico*, Diaz Rebelo L., Gonzalez Forero A., Vacca Ariza F.**, Parra Galvis D. Asesor metodológico***.

RESUMEN

Objetivo: El propósito de este estudio fue determinar el efecto de la activación de un protocolo de irrigación con el Láser Erblio, Cromo: Itrio-Escandio-Granate-Galio (ErCr:YSGG) sobre la microdureza de la dentina radicular.

Método: 23 dientes unirradiculares fueron extraídos y divididos longitudinalmente: 46 mitades analizados con durímetro de Vickers. Los grupos 2,3, 4 fueron irrigados y activados a 2 mm de la longitud de trabajo, por 60 seg, posteriormente inactivados con agua destilada e irrigados con EDTA 17 %. Grupo1: irrigación con solución salina. Grupo 2: NaOCl 5.25 % activación sónica (Endoactivator), Grupo 3: NaOCl 5.25 % activación Ultrasónica. Grupo 4: NaOCl 5.25 % activación con láser Er,Cr:YSGG con refrigeración constante. Se utilizó un test de ANOVA con una significancia estadística del 95 %.

Resultados: Se encontró diferencias significativas en la microdureza de la dentina radicular entre los grupos experimentales y el grupo de solución salina. No se observó diferencia significativa entre los grupos de activación. Se encontró una diferencia en las medianas entre los grupos experimentales, siendo cualitativamente significativo en el tercio coronal.

Conclusiones: la activación del hipoclorito de sodio al 5,25% utilizando diferentes métodos de agitación mostró una disminución en la microdureza de la dentina radicular, siendo el láser ErCr:YSGG seguro para utilizarlo en la activación bajo los parámetros utilizados.

Palabras clave: Hipoclorito de sodio, EDTA, Irrigante, microdureza, Durímetro de Vickers, Laser ErCr:YSGG, Ultrasonido, Endoactivator

ABSTRACT

Objective: The purpose of this study was to determine the effect of the activation of an irrigation protocol with the Erbium Chromium: itrio-scandium-garnet-gallium (ErCr:YSGG) laser on the microhardness of root canal dentin

Method: 23 teeth unirradicular were extracted and longitudinally divided in 46 halves analyzed with Vickers hardness. Group 1: irrigation with saline solution. Group 2,3,4 were irrigated and activated at 2mm working length for 60 sec, later inactivated with distilled water and irrigated with 17% EDTA. Group 2: 5,25% NaOCl and sonic activation (Endoactivator), Group 3: 5,25% NaOCl and ultrasonic activation, Group 4: 5,25% NaOCl and activation with ErCr:YSGG laser with constant cooling. An ANOVA test with a statistical significance of 95% was used



Results: Significant differences were found in the microhardness of the root dentin between the experimental groups and the saline solution group. The difference between the activation groups was not observed. A difference was found in the medians between the experimental groups, being qualitatively significant in the coronal third

Conclusion: Activation of sodium hypochlorite at 5,25% using different methods of agitation showed a decrease in the microhardness of root canal dentin, being the ErCr:YSGG laser safe for use in activation under the parameters used.

Keyword: Sodium hypochlorite, EDTA, irrigating, Microhardness, Vickers Hardness Test, ErCr:YSGG laser, ultrasonic, Endoactivator.

*Dra. Johanna Hernandez Asesor Científico

** Luisa Diaz Rebelo, Alejandra Gonzalez Forero, Federico Vacca Ariza Residentes especialización en Endodoncia

***Dra. Diana Galvis Asesor metodológico

INTRODUCCIÓN

El éxito del tratamiento de endodoncia se basa en la limpieza, conformación y sello tridimensional del sistema de conductos radiculares, mediante una preparación quimicomecánica, buscando alcanzar un espacio libre de bacterias; sin embargo, debido a una compleja anatomía radicular, la instrumentación biomecánica tanto manual como rotatoria y los irrigantes por sí solos no logran una completa desinfección de los conductos radiculares. (1)(2).

Actualmente no hay un irrigante que cumpla con todas las características ideales tales como: un amplio espectro antimicrobiano, inactivación de endotoxinas, remoción del barrillo dentinario, disolución de materia orgánica, baja toxicidad, no ser alergénico y carcinogénico. Por lo tanto, se han propuesto protocolos de irrigación donde cada sustancia cumple una función en la desinfección del sistema de conductos radiculares. (2)(3)(4). El hipoclorito de sodio

es el irrigante más usado en Endodoncia debido a su amplio espectro antimicrobiano y su capacidad de disolver tejido vital y necrótico. El ácido etilendiaminotetracético (EDTA) es un quelante utilizado también en el protocolo de irrigación en Endodoncia para remover el barrillo dentinario y actúa sobre la matriz inorgánica de la dentina radicular. (2)(3)

El mecanismo de acción de los irrigantes depende del tiempo, concentración y volumen que se utilicen durante el tratamiento. Además la penetración del irrigante a zonas de difícil acceso por la morfología anatómica de los conductos radiculares como istmos, conductos laterales, depende de un flujo dinámico del irrigante dentro del espacio del conducto radicular. Por esta razón, los irrigantes requieren de una activación o agitación por medio de diferentes métodos entre ellos ultrasónicos y sónicos, los cuales mejoran la difusión de los irrigantes, haciendo que estos puedan tener mayor penetración en las



irregularidades anatómicas y así alcanzar la desinfección del conducto radicular.⁽⁵⁾⁽⁶⁾

Una de las técnicas más recientes para la activación de los irrigantes en Endodoncia, es el uso del Láser mediante la técnica LAI (laser activated irrigation), en la cual se introduce la fibra del láser a 2 o 5mm del ápice. Los láseres más utilizados en Endodoncia han sido los Erbium, neodimio y el láser diodo. El láser ErCr-YSGG presenta una longitud de onda de 2780nm, el cual se encuentra en luz infrarroja, siendo altamente absorbida por el agua y la hidroxiapatita. Fue aprobado en el 2002 para su uso en endodoncia y se ha utilizado para la activación de los irrigantes ya que se ha comprobado que mediante una fibra óptica, tiene la capacidad de formar burbujas elípticas que se expanden a través de los túbulos dentinarios y causar expansión de estas burbujas 1600 veces más del volumen original, permitiendo que el irrigante tenga mayor penetración e impacte las paredes del conducto. ⁽⁷⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾

Estudios han reportado las desventajas que presentan los irrigantes sobre las propiedades mecánicas y físicas de la dentina radicular, aumentando el riesgo de fractura radicular. El hipoclorito de sodio al 5% tiene efectos negativos ya que se ha reportado que degrada la matriz orgánica, específicamente el colágeno tipo 1, afectando la microdureza de la dentina radicular. El EDTA al 17% tiene un impacto sobre la matriz inorgánica de la dentina debido a su acción desmineralizante. El uso prolongado de ambos irrigantes reduce significativamente la microdureza de la dentina radicular y genera cambios morfológicos como la erosión de la dentina. ⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾⁽¹²⁾⁽¹³⁾

El uso del láser Er Cr-YSGG también ha reportado generar cambios morfológicos en la dentina radicular tales como carbonización, selle de túbulos dentinarios y grietas identificado bajo Microscopio Electrónico de barrido (SEM) cuando se aumenta la temperatura y la potencia del láser. Sin embargo, no se han reportado sus efectos sobre la microdureza de la dentina radicular luego de la activación de los irrigantes. ⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾

La dureza se define como la resistencia de un material a la deformación permanente y usualmente se puede medir por test de abrasión, test de marcas o test de indentación. En este estudio se utilizó el test de indentación mediante un instrumento conocido como Durímetro de Vickers el cual tiene una carga que varía de 1 -120kg y se caracteriza por presentar un penetrador en forma de pirámide de diamante con un ángulo base de 136°, generándose una huella en la superficie del material ⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾.

Debido a que no se han reportado estudios sobre los efectos del uso del láser ErCr:YSGG a nivel de las propiedades físicas de la dentina radicular, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la activación de un protocolo de irrigación con el Láser Erbium, Cromo: Itrio-Escandio-Granate-Galio (ErCr:YSGG) sobre la microdureza de la dentina radicular.

MATERIALES Y METODOS

Se realizó un estudio exploratorio IN VITRO con un total de 23 dientes unirradiculares de diferentes longitudes que fueron extraídos por indicaciones ortodónticas y con enfermedad periodontal. Los criterios de inclusión fueron dientes libres de caries, sin



tratamiento endodóntico y sin restauraciones previas.

Posterior a su extracción fueron almacenados en agua destilada a temperatura ambiente hasta su uso. La muestra se dividió aleatoriamente en cuatro grupos experimentales:

- Grupo 1: control negativo irrigación con Solución salina (3 muestras).
- Grupo 2: Irrigación con NaOCl 5.25 % activación sónica (Endoactivator) por 60 segundos a 2mm de la longitud de trabajo, inactivación con agua destilada + irrigación con EDTA 17 % inactivación con agua destilada (5 muestras).
- Grupo 3: Irrigación con NaOCl 5.25 % activación Ultrasónica por 60 segundos a 2mm de la longitud de trabajo, inactivación con agua destilada + irrigación con EDTA 17 % inactivación con agua destilada (5 muestras).
- Grupo 4: Irrigación con NaOCl 5.25 % activación con láser Er,Cr:YSGG (Waterlase Biolase con una frecuencia de 20hertz, una potencia de 0.75W, 75mJ, con una fibra óptica de 200um, con refrigeración constante del sistema de enfriamiento del equipo) por 60 segundos⁽²⁰⁾ a 2mm de la longitud de trabajo, inactivación con agua destilada + irrigación con EDTA 17 % inactivación con agua destilada (10 muestras).

Preparación de la muestra

La muestra fue distribuida al azar y un operador experimentado tomó la radiografía inicial en sentido vestíbulo lingual con el fin de corroborar la anatomía y permeabilidad del conducto. Posteriormente, se realizó apertura de la cámara pulpar con fresa redonda número 3 y fresa Endo Z con pieza de alta velocidad bajo irrigación. Una vez encontrado el conducto se utilizó una lima manual flexofile #10 para permeabilizar y establecer la longitud de trabajo, realizando patencia 1 mm más allá del ápice.

Se preensanchó el conducto radicular con limas #15, 20, 25 flexofile, se realizó preparación con un sistema rotatorio reciprocante con una lima de diámetro apical #25 y conicidad 7%. Se utilizó una aguja de calibre 27 con bisel lateral para la irrigación con cada solución.

Las coronas de los dientes no fueron seccionadas debido a que en el momento de la irrigación y posterior activación con los diferentes sistemas se presentaba la salida del irrigante. Se dividieron longitudinalmente en una dirección vestibulolingual a través del centro de la raíz del diente, usando un disco de diamante de 320 micras a 500 rpm con irrigación constante de agua destilada, dando como resultando 46 mitades. La lectura de las muestras se realizó inmediatamente después de ser seccionados.

Prueba del Durímetro de Vickers

46 mitades fueron utilizadas en la prueba de durimetría de Vickers (BUEHLER/ISOMET). Se marcaron 3 indentaciones en cada tercio de la superficie radicular alrededor del punto



medio elegido en la interfase pulpa-dentina usando una carga de 500g por 15 segundos, a una profundidad de 1000 micras (1mm) para que se observara la indentación. Se registraron los valores de cada una de las profundidades por cada tercio y se determinó un promedio del resultado de las 3 indentaciones.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico se utilizó un test de ANOVA de dos vías, con una significancia estadística del 95 %.

RESULTADOS

La microdureza de la dentina fue valorada en los tercios radiculares de cada muestra, observando que dicha característica se modificó en comparación al grupo control negativo (solución salina).

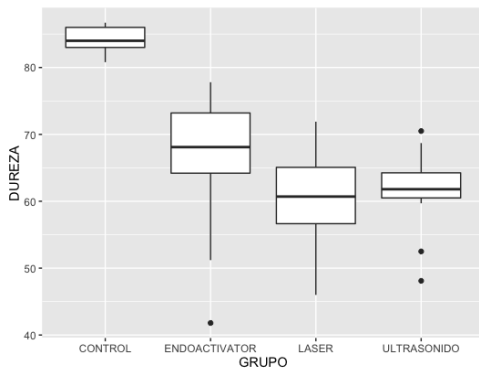


Gráfico 1. Comparación microdureza de la dentina entre grupos de agitación.

En el análisis de los resultados entre los grupos experimentales, se puede observar una diferencia estadísticamente significativa entre la microdureza obtenida en el grupo 1 (control negativo solución salina) en comparación con los grupos experimentales activados con endoactivador, ultrasonido y láser ErCr:YSGG, donde se observa una

disminución de los valores de la microdureza de la dentina radicular.

Al comparar el grupo 4 (láser ErCr:YSGG) con los grupos 2 (endoactivador) y 3 (Ultrasonido) se observó que no existen diferencias significativas a un nivel de significancia del 5% ($p > 0,05$). En el análisis de las medianas se observó que en el tercio coronal el grupo 2 (Endoactivador) obtuvo un valor mínimo de 65,8 HV, observándose diferencias significativas con los valores mínimos obtenidos con el grupo 3 (ultrasonido) (48,1HV) y en el grupo 4 (láser ErCr-YSGG) (46HV)

Tercio	Grupo control			Endoactivador			Ultrasonido			Laser Er,Cr:YSGG		
	Min	Max	Media	Min	Max	Media	Min	Max	Media	Min	Max	Media
Cervica I	85,4	86,2	86	65,8	77,6	69	48,1	68,6	61,8	46	71,7	59,4
Medio	83,2	86,7	84	62,6	77,8	67,4	62,8	70,5	64,6	53,5	71,9	62,4
Apical	80,8	83	81,2	69	72,6	70,8	52,5	61,3	60,2	51,3	71,4	59,4

Tabla 1. Valores de la indentación posterior a la irrigación y activación con tres métodos de activación del irrigante. (HV)

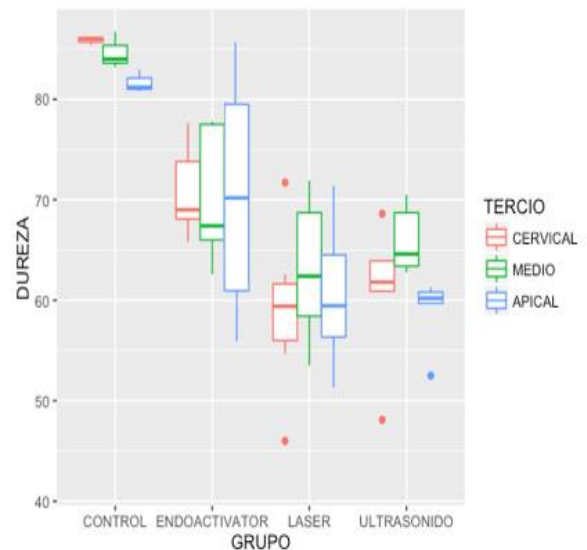


Gráfico 2. Comparación de métodos de agitación de irrigantes según tercio radicular observado.



En el análisis de los resultados por tercios radiculares se observa una diferencia significativa entre las medianas del tercio coronal entre los tres grupos experimentales. Se observa que las medianas de los tercios medio y apical no presentaron diferencia significativa.

DISCUSIÓN

Evaluar el efecto de la irradiación del Láser ErCr:YSGG sobre la microdureza de la dentina permite determinar las ventajas y desventajas que puede presentar la activación de un protocolo de irrigación con diferentes métodos de agitación y determinar los posibles efectos adversos sobre la dentina radicular.

La dentina está compuesta por un 70 % de materia inorgánica (siendo 60% hidroxiapatita y 10% de agua) y un 20% de materia orgánica compuesto por proteínas, que proporcionan la resistencia y dureza de la misma (21). La hidroxiapatita es el principal mineral de la dentina la cual le provee fuerza y dureza (15).

Para evaluar los efectos de los protocolos de irrigación usados en el presente estudio se utilizó el durímetro de Vickers el cual se ha utilizado en estudios de microdureza de la dentina radicular previamente (12)(15). Craig y Pashley reportaron que la dureza de la dentina está determinada por la densidad y número de túbulos dentinales, los cuales varían en su localización, encontrando menor número de túbulos en la dentina radicular y presentando mayor número de dentina intertubular (21)(22)(23)(24)(25). La determinación de la microdureza puede proveer evidencia indirecta de la pérdida o ganancia de minerales del tejido duro del diente, existiendo una relación entre

las propiedades mecánicas y el contenido mineral de los tejidos del diente (15)(24)(25). La afinidad que tiene el láser ErCr:YSGG con la dentina se debe a que la energía es altamente absorbida por el agua contenida en la matriz orgánica e inorgánica y la hidroxiapatita, siendo más afectada la dentina intertubular debido a su alto contenido de agua, el cual es el principal cromóforo de este tipo de láser.(6)(15)

Se ha demostrado que las soluciones irrigantes por sí sólo sin activación alteran los componentes orgánicos e inorgánicos de la dentina radicular, generando alteraciones de las propiedades físicas y erosión de la dentina peritubular e intertubular (26)(27)(28). Hernández y col. encontraron una disminución significativa de los valores de microdureza en los tres tercios radiculares cuando se utilizó el protocolo de irrigación 5,25% de NaOCl+17% de EDTA y una disminución de la banda de grupo fosfato y amida bajo el estudio de Espectroscopia de Ramman (12). Esta afectación que sufre la dentina radicular la hace más vulnerable a tener alto riesgo de fractura radicular.(11)

El análisis de los resultados del presente estudio indicó que la irrigación con NaOCl al 5,25%, activado con mecanismos de agitación (Endoactivator, ultrasonido y Láser ErCr:YSSG) y una irrigación final con EDTA al 17%, disminuyó significativamente la microdureza en los tres tercios de la dentina radicular en comparación con el grupo control (solución salina), atribuido al uso de mecanismos que agitan el irrigante y generan que exista un flujo mayor dentro del conducto radicular, mejorando la eficacia antimicrobiana del hipoclorito de sodio. (6)(13)(26)(27)(28). Se ha reportado el efecto de cavitación del



irrigante generado por el ultrasonido y el Láser ErCr:YSGG, siendo característico lo encontrado con el fenómeno producido con el Láser ErCr:YSGG debido a la formación y colapso de burbujas que se producen cuando la energía del láser es absorbida por el agua, lo que genera un vapor de burbujas inicial las cuales se expanden hasta el final de la fibra del láser e implosionan consecutivamente a través de todo el conducto radicular.

(6)(7)(8)(9)(20)

Cuando se comparan los tres métodos de activación del irrigante usado en el protocolo de irrigación, se observó que no hubo diferencias significativas. Sin embargo, en el análisis de los valores de la media se observa una diferencia entre el Endoactivator con el ultrasonido y el Láser, con los cuales se afectó más la microdureza de la dentina radicular. Esto se puede atribuir al efecto cavitacional, el cual es más efectivo en el movimiento hidrodinámico del irrigante dentro del conducto radicular. Los efectos encontrados con la técnica de activación Sónica, la cual demostró que afecta en menor proporción la microdureza de la dentina comparado con el ultrasonido y el láser, se debe a que produce una oscilación mínima de 1-6 hertz, el cual no permite una corriente acústica debido a su baja frecuencia y velocidad oscilatoria por su frecuente contacto con las paredes del conducto radicular, haciendo que el flujo sea débil en apical y no permite que se forme un efecto de cavitación. (6)(29)

En el presente estudio se utilizó el láser Er,Cr:YSGG con la técnica LAI a 2mm del ápice, bajo una potencia de 0.75W, usando el hipoclorito de sodio como lubricante y el agua del sistema de enfriamiento del equipo por 1 minuto. Yamazaki y col. utilizó el láser

ErCr:YSGG sin refrigeración con una potencia de 1 a 6W, observando mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) carbonización, grietas y túbulos dentinarios sellados y derretidos; no obstante, cuando se utilizó refrigeración con una potencia de 5 y 6W por 3 segundos, se observaron grietas en la superficie de la dentina radicular y un aumento de temperatura de 8°C. Estos cambios morfológicos pueden afectar el contacto íntimo de los materiales de obturación con las paredes del conducto radicular (14). Piyanart y colaboradores realizaron un estudio donde se determinó los valores de microdureza sobre disco de dentina de 2mm de grosor y fueron irradiados con el láser Er,Cr:YSGG usando potencias de 3, 3.5, 4, 4.5W por 60 seg, encontrando que se disminuyó la microdureza de la dentina en un 30-50% después de la irradiación. (15).

Los resultados del presente estudio no concuerdan con los anteriormente mencionados. A pesar de que en el estudio de Piyanart y col. se estudia las propiedades mecánicas de la dentina, no se enfocan en la dentina radicular, ni en los efectos del láser ErCr:YSGG usado con protocolos de irrigación.

Lopes y col. evaluaron el efecto del láser ErCr:YSGG sobre los componentes orgánicos e inorgánicos de la dentina radicular a través de Espectroscopia de Ramman, observando disminución significativa de los picos de colágeno cuando se utilizó a una potencia de 1.5W, con refrigeración por 20 segundos, causando vaporización del agua y de otros componentes orgánicos como el colágeno. A pesar de que no se estudian los efectos sobre la microdureza de la dentina radicular, previos estudios han demostrado que la espectroscopia de



ramman es un método para caracterizar la composición química de la dentina, observando la matriz orgánica e inorgánica, lo que nos permite relacionarlo con el presente estudio (12)(30)(31). Sin embargo, no concuerdan con los resultados del presente estudio, ya que a pesar de que si hubo disminución de la microdureza de la dentina, no se observó diferencias significativas con el método de agitación sónico y ultrasónico, posiblemente debido a que se utilizó una baja potencia de 0,75W que no generó un aumento de temperatura, lo que disminuye los efectos adversos y bajo refrigeración del sistema que pudo diluir la concentración del hipoclorito de sodio.

En el análisis de los resultados por tercios radiculares se pudo observar que se afectó más la microdureza en el tercio cervical, lo que concuerda con los resultados obtenidos en el estudio de Lopes y col, donde se afectó más el índice mineral/colágeno en el tercio cervical. Esto probablemente se debe a que las soluciones irrigantes están más tiempo en contacto en esta zona y a que existe mayor número de túbulos dentinales los cuales determinan la dureza de la dentina según Craig y Pashly. Además presentan el fluido dentinal, el cual tiene afinidad con la energía del láser. (2)(3)(11)(12)(15)

Entender las propiedades mecánicas de la dentina radicular y los efectos luego de usar diferentes irrigantes y técnicas para mejorar la desinfección de los conductos radiculares, nos ayuda a optimizar condiciones para mejorar el éxito del tratamiento endodóntico, sin alterar la fisiología de la dentina radicular, siendo esto importante para el posterior tratamiento adhesivo con las paredes del conducto radicular, logrando finalmente una restauración definitiva. Se

recomienda en posteriores estudios el análisis químico de los componentes orgánicos e inorgánicos mediante Espectroscopia de Ramman y evaluar bajo Microscopia electrónica de barrido (SEM) cambios morfológicos a diferentes potencias con o sin refrigeración.

CONCLUSIÓN

Bajo las condiciones del presente estudio se puede concluir que la activación del hipoclorito de sodio al 5,25% utilizando diferentes métodos de agitación, mostró una disminución en la microdureza de la dentina radicular. Sin embargo, al comparar los grupos de estudio se observó que el uso del láser ErCr:YSGG es seguro ya que en comparación con los otros métodos no se observó diferencias significativas utilizándolo bajo los parámetros establecidos en el estudio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Peters Ove, Peters Christine. Limpieza y conformación del sistema de conductos radiculares. En: Cohen S, Hargreaves K. Vías de la pulpa décima edición. 2012. Elsevier. España.
2. Zehnder M. Root canal Irrigants. J Endod. 2006;32:389-398.
3. Handa A, Sharma R. Influence of root canal irrigants on dental tissue: a review of literature. Indian J Dent Sci. 2013;5:73-76.
4. Kai Zhang, Young Kyung Kim. Effects of Different Exposure Times and Concentrations of Sodium Hypochlorite/ Ethylenediaminetetraacetic Acid on the Structural Integrity of Mineralized Dentin. J Endod 2010;36:105-109



5. Roeland M, Dries T, Maarten M.; Lasers in endodontics. Part 2: Root canal wall cleanliness and modification. *Endodontic Practice Today* . 2009, Vol. 3 Issue 1, p19-33. 15p. 1 Color Photograph, 7 Black and White Photographs, 1 Diagram, 1 Chart, 1 Graph.
6. Luc W.M., Bram V, Macedo R., Versluis M. The role of irrigation in Endodontics. En: Olivi G, De Moor R., Devito E . *Laser in endodontics*. 2016. Springer
7. Peters O., Bardsley S., Fong J., Pandher G., DiVito E.; Disinfection Of Root Canals With Photon-Initiated Photoacoustic Streaming, 2001;37. 1008-1012
8. De Moor R., Meire M., Gobarkbay K., Mortiz A., Vanobbergen J.; Efficacy Of Ultrasonic Versus Laser-Activated Irrigation To Remove Artificially Placed Dentin Debris Plugs, *American Association of Endodontist*, 2010;36:1580-1583
9. Roeland M, Dries T, Maarten M.; Lasers in endodontics. Part 2: Root canal wall cleanliness and modification. *Endodontic Practice Today* . 2009, Vol. 3 Issue 1, p19-33. 15p. 1 Color Photograph, 7 Black and White Photographs, 1 Diagram, 1 Chart, 1 Graph.
10. Tang W, Wu Y, Smales R. Identifying and reducing risks for potential fractures in endodontically treated teeth. *J Endod*. 2010;36:609-617.
11. Merending M, Paque F, Fisher J, Zhender M. Impact of irrigant sequence of mechanical property of human of dentin. *J Endod*. 2007;33:1325-1328.
12. Hernández J, Pinto F, Velosa M, Galindo L. Efecto de la sustantividad de la clorhexidina al 2% como irrigante final en la microdureza de la dentina radicular [Tesis][Colombia, Bogota][Universidad Santo Tomas] 2015.
13. Qian W, Shen Ya, Haapasalo M. Quantitative analysis of the effect of irrigant solution sequences on dentin erosion. *J Endod*. 2011;37:1437-14408.
14. Yamazaki R., Goya C., Yu Da-G., Kimura Y., Matsumoto K., Effects Of Erbium, Chromium: YSGG Laser Irradiation On Root Canal Walls: A Scanning Electron Microscopic And Thermographic Study; *Journal Of Endodontics*, 2001, Vol. 27, No. 1
15. Piyanart Ekworapoj, Sharanbir K. Sidhu, John F. McCabe. Effect of different power parameters of Er,Cr:YSGG laser on human dentine. *Lasers Med Sci* (2007) 22:175–182
16. Schoop U., Barylyak A., Goharkhay K., Beer F., Wernisch J., Georgopoulos A., Sperr W, Moritz A.; The impact of an erbium, chromium: yttrium-scandium-gallium-garnet laser with radial-firing tips on endodontic treatment, *Lasers Med Sci*, 2007-24 June, DOI 10.1007/s10103-007-0520-4
17. Arends J, Bosch JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res* 1992; 71:924-8
18. Ryge G. Foley D. Fairhurst C. Micro-Indentacion Hardness. *J Dent Res*.1961;40:1116-1126.
19. Totah V. Increase in hardness of Dentin on Drying. *J Dent Res*. 1941;15:99-101
20. Huiz H., Peeters, Y Suardita K. Efficacy of Smear Layer Removal at the Root Tip by Using Ethylenediaminetetraacetic Acid and Erbium, Chromium: Yttrium, candium, Gallium Garnet Laser. *J Endo*. 2011;37:1585-1589
21. Kinney J, Marshall S, Marshall W. the mechanical properties of human dentin: a critical review and re evaluation of the dental literature. *Crit rev oral biol med*. 2003; 14(1):13-29.
22. Inoue T. Comparison of nanohardness between coronal and radicular intertubular dentin. *Dent Mater J*. 2009; 28:295-300.



23. Xu C, Wang Y. Chemical composition and structure of peritubular and intertubular human dentin revisited. *Arch Oral Biol.* 2012;57:383–391.
24. Pashley D, Okabe A, Parham P. The relationship between dentin microhardness and tubule density. *Endod Dent Traumatol* 1985; 1:176-9
25. Craig R, Peyton F. The microhardness of enamel and dentin. *J dent Res.* 1959; 38:624.630
26. Dogan H, Qalt S. Effects of chelating agents and sodium hypochlorite on mineral content of root dentin. *J Endod* 2001; 27:578-80
27. Arends J, Bosch JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res* 1992; 71:924-8.
28. Merending M, Paque F, Fisher J, Zhender M. Impact of irrigant sequence of mechanical property of human of dentin. *J Endod.* 2007; 33:1325-1328.
29. Gu L, Kim J, Ling J, Choi K, Pashley D, Tay F. Review of Contemporary irrigant agitation techniques and devices. *J Endo.* 2009;35:791-803
30. Lopes FC, Roperto R, Akkus A, Akkus O, Souza-Gabriel AE, Sousa-Neto MD. Effects of different lasers on organic/inorganic ratio of radicular dentin. *Lasers Med Sci.* 2016 Apr;31(3):415-20.
31. Tsuda H. Arends J. Raman spectroscopy in dental research: a short review of recent studies. *Adv Dent Res.* 1997; 539.547
32. Olivi G, MD,DDS. Laser Use in Endodontics: Evolution from Direct Laser Irradiation to Laser-Activated Irrigation. *Journal Laser Dent.*2013;21(2), 58-71



