



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

ДАЈАНА НОГО-ЖИВАНОВИЋ

**ЕЛЕКТРОНСКО-МИКРОСКОПСКА АНАЛИЗА УТИЦАЈА ИРИГНАСА НА
РАЗМАЗНИ СЛОЈ И МИНЕРАЛНИ САСТАВ ДЕНТИНА КАНАЛА КОРЕНА ЗУБА**

Ментор: Проф. др Ирена Танасковић

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

САДРЖАЈ:

1. УВОД	11
1.2. ДЕНТИН КАНАЛА КОРЕНА	12
1.2.1. ОДОНТОБЛАСТИ.....	14
1.2.2. ПРЕДЕНТИН.....	15
1.2.3. ГЛЕЋНО-ДЕНТИНСКА ГРАНИЦА	15
1.2.4. ПОКРОВНИ ДЕНТИН	15
1.2.5. ПРИМАРНИ И СЕКУНДАРНИ ДЕНТИН.....	16
1.2.6. ПЕРИТУБУЛАРНИ ДЕНТИН И СКЛЕРОЗА ДЕНТИНА	17
1.2.7. ТЕРЦИЈАРНИ ДЕНТИН.....	18
1.2.8. ДЕНТИН КАНАЛА КОРЕНА	19
1.2.9. ФИЗИОЛОШКЕ И ПАТОЛОШКЕ ПРОМЕНЕ У ДЕНТИНУ	19
1.2.10. САСТАВ ДЕНТИНА КАНАЛА КОРЕНА	20
1.3. РАЗМАЗНИ СЛОЈ	21
1.3.1. ФАКТОРИ КОЈИ УТИЧУ НА ФОРМИРАЊЕ РАЗМАЗНОГ СЛОЈА.....	22
1.3.2. ЗНАЧАЈ РАЗМАЗНОГ СЛОЈА	23
1.3.3. МЕТОДЕ УКЛАЊАЊА РАЗМАЗНОГ СЛОЈА.....	25
1.4. ИРИГАНСИ У ЕНДОДОНТСКОЈ ТЕРАПИЈИ	29
1.4.1. НАТРИЈУМ ХИПОХЛОРИТ (<i>NaOCl</i>).....	30
1.4.2. ЕТИЛЕНДИАМИНОТЕТРААЦЕТАТНА КИСЕЛИНА (<i>EDTA</i>).....	34

1.4.3. <i>MTAD</i>	37
1.4.4. <i>QMix</i>	40
1.5. УТИЦАЈ ИРИГАНАСА НА МИНЕРАЛНИ САСТАВ ДЕНТИНА	41
1.5.1. УТИЦАЈ ИРИГАНАСА НА <i>Ca</i> И <i>P</i> У ДЕНТИНУ КАНАЛА КОРЕНА	41
1.5.2. УТИЦАЈ ИРИГАНАСА НА <i>Mg</i> У ДЕНТИНУ КАНАЛА КОРЕНА	43
1.5.3. УТИЦАЈ ИРИГАНАСА НА <i>S</i> У ДЕНТИНУ КАНАЛА КОРЕНА.....	44
1.5.4. УТИЦАЈ ИРИГАНАСА НА <i>K</i> , <i>Na</i> , <i>O</i> И <i>C</i> У ДЕНТИНУ КАНАЛА КОРЕНА ...	44
2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ.....	47
2.1. ЦИЉ СТУДИЈЕ.....	47
2.2. ХИПОТЕЗЕ.....	49
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ ИСТРАЖИВАЊА	51
3.1. ИЗБОР И ПРИПРЕМА УЗОРКА.....	51
3.2. ИНСТРУМЕНТАЦИЈА И ИРИГАЦИЈА КАНАЛА КОРЕНА	52
3.3. СКЕНИРАЈУЋА ЕЛЕКТРОНСКО МИКРОСКОПСКА АНАЛИЗА (<i>SEM</i>) ЕФИКАСНОСТИ УКЛАЊАЊА РАЗМАЗНОГ СЛОЈА.....	58
3.4. ЕНЕРГЕТСКО ДИСПЕРЗИВНА СПЕКТРОСКОПСКА АНАЛИЗА (<i>EDS</i>) МИНЕРАЛНОГ САСТАВА ДЕНТИНА.....	65
3.5. СТАТИСТИЧКА МЕТОДОЛОГИЈА.....	66
4. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА	68
4.1. <i>SEM</i> АНАЛИЗА ЕФИКАСНОСТИ УКЛАЊАЊА РАЗМАЗНОГ СЛОЈА.....	68

4.1.1. Уклањање размазног слоја након финалне иригације <i>EDTA</i>	68
4.1.2. Уклањање размазног слоја након финалне иригације <i>MTAD</i>	73
4.1.3. Уклањање размазног слоја након финалне иригације <i>QMix</i>	77
4.1.4. Уклањање размазног слоја након финалне иригације у контролној групи.....	81
4.1.5. <i>SEM</i> анализа ефикасности уклањања размазног слоја у коронарној трећини	85
4.1.6. <i>SEM</i> анализа ефикасности уклањања размазног слоја у средњој трећини	86
4.1.7. <i>SEM</i> анализа ефикасности уклањања размазног слоја у апикалној трећини	87
4.2. <i>EDS</i> АНАЛИЗА МИНЕРАЛНОГ САСТАВА ДЕНТИНА	89
4.2.1. Средње вредности $\pm SD$ <i>Ca</i> коренског дентина у апикалној и коронарној трећини након различитих протокола финалне иригације	89
4.2.2. Средње вредности $\pm SD$ <i>P</i> коренског дентина у апикалној и коронарној трећини након различитих протокола финалне иригације	90
4.2.3. Однос <i>Ca/P</i> коренског дентина у апикалној и коронарној трећини канала након различитих протокола финалне иригације	92
4.2.4. Средње вредности $\pm SD$ <i>Mg</i> коренског дентина у апикалној и коронарној трећини након различитих протокола финалне иригације	93
4.2.5. Средње вредности $\pm SD$ <i>S</i> коренског дентина у апикалној и коронарној трећини након различитих протокола финалне иригације	95
4.2.6. Средње вредности $\pm SD$ <i>K</i> коренског дентина у апикалној и коронарној трећини након различитих протокола финалне иригације	96

4.2.7. Средње вредности $\pm SD$ <i>Na</i> коренског дентина у апикалној и коронарној трећини након различитих протокола финалне иригације	96
4.2.8. Средње вредности $\pm SD$ <i>O</i> коренског дентина у апикалној и коронарној трећини након различитих протокола финалне иригације	98
5. ДИСКУСИЈА.....	102
6. ЗАКЉУЧЦИ	115
7. ЛИТЕРАТУРА.....	118

ЕЛЕКТРОНСКО-МИКРОСКОПСКА АНАЛИЗА УТИЦАЈА ИРИГАНАСА НА РАЗМАЗНИ СЛОЈ И МИНЕРАЛНИ САСТАВ ДЕНТИНА КАНАЛА КОРЕНА ЗУБА

РЕЗИМЕ

Увод: Комплексна грађа каналног система ограничава ефекат механичке инструментације током ендодонтске терапије, па је упоредо са инструментацијом, неопходна и примена одговарајућих иригационих раствора, како би се уклонио размазни слој и испољио дезинфекциони ефекат. Познато је да током иригације канални ириганси директно долазе у контакт са површинским слојем дентина а затим и дентинским тубулима, како би извршили чишћење. Поред ефекта на размазни слој, канални ириганси могу да утичу и на измене у минералном саставу дентина канала корена. Циљ овог истраживања је био да се упореди ефикасност уклањања размазног слоја и промене у минералном саставу коренског дентина након испирања *NaOCl* и финалног испирања *MTAD*, *QMix* и 17% *EDTA*.

Материјал и методе: У истраживање су укључени једнокорени зуби који су пре инструментације и испирања *NaOCl*, методом случајног узорка подељени у четири групе ($n=10$), да би након тога у свакој групи био примењен различит ириганс за финално испирање: *MTAD*, *QMix*, *EDTA* и стерилна дестилована вода (контролна група). Површина дентина канала корена анализирана је скенинг електронском микроскопијом (*SEM*) у циљу одређивања присуства размазног слоја. Енергетско дисперзивна спектроскопија (*EDS*) коришћена је за одређивање минералног састава дентина у свим групама (*MTAD*, *QMix*, 17% *EDTA* и контролној групи), као и код необрађиваних узорака (неинструментирана група; $n=10$). **Резултати:** Између различитих хелатних средстава није било значајних

разлика у уклањању размазног слоја у коронарној и средњој трећини ($p > 0,05$). У апикалној трећини *QMix*-ом је уклоњено значајно више размазног слоја него са *EDTA* ($p < 0,05$), а приближно исто као са *MTAD* ($p > 0,05$). Финална иригација *MTAD*-ом узроковала је значајно повећање *C* и *S* у поређењу са групом у којој је примењени ириганс био *EDTA* ($p < 0,05$). Није било значајне разлике у погледу минералног састава између група у којима су примењени *MTAD* и *QMix*, осим за вредности сумпора (*S*) у апикалној трећини ($p < 0,05$), иако су вредности минералних елемената биле промењене у *MTAD* групи. **Закључак:** Ефикасност примене *QMix* ириганса за уклањање размазног слоја, слична је ефикасности *MTAD* ириганса, а ефикаснија од 17% *EDTA* у апикалној трећини. Иако је иригација *MTAD*-ом била праћена знатним променама минералног састава коренског дентина, разлике су биле значајне само за вредност *C* и *S* у поређењу са применом 17% *EDTA*.

Кључне речи: иригација, размазни слој, минерални састав дентина

ELECTRONIC-MICROSCOPIC ANALYSIS OF THE IMPACT ROOT CANAL IRRIGANTS ON SMEAR LAYER AND MINERAL CONTENT ROOT CANAL DENTIN

SUMMARY

Introduction: The anatomical complexities of the root canal system limit the effect of mechanical instrumentation, so it is necessary to combine with appropriate irrigating solutions during endodontics treatment to remove the smear layer and exhibit the disinfectant effect. It is known that, during canal irrigation, the solution initially comes into direct contact with the most superficial dentin layer and then diffuses into the tubular dentin structure, promoting cleaning. In addition to the effects on the smear layer, root canal irrigants can also affect changes in the mineral composition of root canal dentine. To compare the smear layer removal ability and mineral content of root canal dentine after irrigation with NaOCl and final irrigation with MTAD, QMix, and 17% EDTA. **Material and methods:** Forty extracted human single root teeth, before root canal preparation and irrigation with NaOCl were randomly divided into the four groups (n=10) according to the type of final irrigants used: MTAD, QMix, 17% EDTA and control (sterile distilled water). Scanning electron microscopy (SEM) was used to assess the presence of smear layer. SEM Energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS) was used to quantify dentin mineral composition in MTAD, QMix, 17% EDTA, control group, and in no treatment samples (no treatment group; n=10). **Results:** Among the various chelating agents there were no significant differences in the smear layer removal in the middle and coronal thirds ($p>0.05$). In the apical third, QMix removed significantly more smear layer than 17% EDTA ($p<0.05$), but similarly to MTAD ($p> 0.05$). Final irrigation with MTAD resulted in a significant increase in

the carbon (C) and sulfur (S) value compared to EDTA ($p < 0.05$). There was no significant difference in the mineral composition between the MTAD and the QMix group, except for S in the apical third, although the values of the mineral elements were significantly altered in the MTAD group. **Conclusions:** QMix had smear layer removal capability similar to MTAD but better than EDTA in the apical third. MTAD yielded the most pronounced effect on mineral component of root dentin; however differences were significant only for C and S level compared to 17% EDTA.

Keywords: irrigation, smear layer, dentin mineral composition,

1. УВОД

1. УВОД

Ендодонтска терапија подразумева механичку препарацију уз адекватну дезинфекцију, тродимензионалну херметичку оптурацију, као и адекватну круничну рестаурацију, којима се постиже уклањање оболелог ткива и бактерија из инфицираног канала корена и дентинских каналића и тиме спречава настанак поновне инфекције. Оваквим приступом, омогућује се враћање зуба у функцију и на тај начин избегава потреба за екстракцијом. Захваљујући бројним техничким као и научним сазнањима, успешност ендодонтске терапије на основу података из литературе износи чак 92-98% (1, 2).

Иако у клиничкој пракси постоји низ фактора који могу да утичу на исход ендодонтске терапије, чини се да успех највише зависи од могућности елиминације инфекције присутне у каналу корена зуба (3). Из тог разлога највећа пажња у току ендодонтске терапије усмерена је на дезинфекцију каналног простора и асептичне услове рада (3).

Резултати бројних истраживања указују да је настанак и патогенеза обољења пулпе и периапексних ткива узрокован присуством бактерија (4, 5). У зависности од фазе обољења пулпе или апексног пародонцијума, различите врсте бактерија могу бити изоловане из инфицираног канала корена. У примарној ендодонтској инфекцији која је по свом саставу полимикробна, преобладајућу бактеријску популацију у инфицираним каналима зуба чине грам негативни бацили, док је у секундарној инфекцији заступљено неколико врста бактерија, а преобладајуће *Enterococcus faecalis* (4). Осим у главном каналу, бактерије могу бити присутне и у дентинским каналићима, акцесорним каналима, рамификацијама,

апексним делтама и трансферзалним анастомозама, тј. у просторима којима је немогуће приступити каналним инструментима.

Инструментација канала корена као један од првих корака у току ендодонтске терапије, не може у потпуности елиминисати бактерије присутне у каналу корена, па је неопходно комбиновати је са хемијским агенсима за иригацију и медикацију који испољавају антимикробно дејство, чиме се постиже смањење броја микроорганизама у ендодонтском простору (5). *Ricucci i Siqueira* сматрају да успех ендодонтског лечења у највећој мери зависи од адекватне дезинфекције латералних канала и апексних рамификација (6).

Дуго времена велика пажња била је усмерена ка анализи исхода ендодонтског третмана након обликовања и дезинфекције коренског канала, међутим у последње време велику пажњу међу ендодонтистима заузима и сазнање о могућим штетним ефектима појединих поступака у току ендодонтске терапије, као и начинима заштите како би се спречили могући неуспеси. Механичка инструментација канала корена, као и иригација у току ендодонтске терапије могу испољити негативан утицај на биомеханичке карактеристике дентина канала корена (7-9).

Резултати ових студија сугеришу да је потребно унапређење различитих поступака у току ендодонтске терапије, укључујући и иригацију канала корена.

1.2. ДЕНТИН КАНАЛА КОРЕНА

Дентин је ткиво које је смештено између глеђи или цемента са једне стране и пулног ткива са друге стране. Представља највећу структурну компоненту зуба.

Захваљујући својој топографској локализацији, дентин пружа потпору зубној глеђи и на тај начин спречава њену фрактуру током оклузалних оптерећења. Такође, штити пулпу од дејства микробиолошких и других потенцијално штетних агенаса. Као витално ткиво, дентин није само пасивна механичка баријера између усне дупље и пулног ткива, већ захвањујући повезаности са пулпним ткивом, учествује у изградњи пулпо-дентинског комплекса, и учествује на више начина у њеној укупној заштити. Дентин садржи и факторе раста, који се могу ослободити у сличајевима изражене абразије или напредовања каријесне лезије и учествовати у регулисању одбрамбене реакције пулпе. Дентин се може поделити на неколико група, у зависности од његовог састава, структуре или врсте. Може се рећи да је дентин „нанокристалима ојачани биокompat“ . Састављен је углавном од неорганских материја око 70% (55% по волумену) и 20% органских материја (30% по волумену) тежински, при чему остало чини вода. Међутим, због специфичне каналикуларне структуре, као и стварања пери и интратубуларног дентина као последица старења и одбрамбених реакција, састав дентина се мења.

Дентин се може поделити и на перитубуларни и интратубуларни. Највећи део органске компоненте дентина смештен је у интратубуларном дентину који формирају одонтобласти на пулподентинској граници. Због оклузије дентинских тубула, количина минерала, као и подела на интра- и перитубуларни дентин, може значајно варирати између различитих делова зуба, тако да перитубуларни дентин полако испуњава лумен дентинских тубула. Најчешћа класификација дентина је на основу фазе његовог формирања, па се тако дентин дели на: дентинско-глеђну границу, покровни дентин, примарни, секундарни и терцијарни дентин. Формирање терцијалног дентина је резултат одбрамбене реакције пулподентинског комплекса на надражаје, и може се поделити на реакциони и

репаративни дентин у зависности од структуре и врсте ћелија које учествују у његовом формирању (10).

1.2.1. ОДОНТОБЛАСТИ

Дентин формирају одонтобласти, излучивањем предентинских протеина, након чега долази до формирања глеђног матрикса диференцирањем амелобласта. Током и након диференцијације, одонтобласти се организују формирајући „ћелијски слој одонтобласта“ , након чега долази до минерализације органског матрикса и формирања првог слоја дентина, који се назива покровни дентин (11). Одонтобласти формирају слој ћелија између дентина и пулпе, при чему је тело ћелије оријентисано ка пулпи, а одонтобласни продужетци су локализовани у дентинским каналићима. Тело ћелије је величине 20-40 μm , у зависности од дентиногене активности. Одонтобласни продужетци, представљају цитоплазматске продужетке смештене у минерализованим дентинским тубулима са једним главним продужетком чија је величина 0,5-1 μm и више тањих бочних грана (10). Иако постоје бројне дилеме о томе колики простор заузимају цитоплазматски продужетци одонтобласта у дентинским каналићима, сматра се да је просечна удаљеност до које се пружају цитоплазматски продужетци око 200-700 μm од пулпо-дентинске границе

1.2.2. ПРЕДЕНТИН

Неминерализовани дентин је дебљине око 10-30 μm и смештен је између одонтобласта и минерализованог дентина. Овде долази до организације органског матрикса пре самог процеса минерализације и стварања интертубуларног дентина. Органски матрикс углавном чини колаген типа I, неколагени протеини-гликопротеини, протеоглици и ензими који контролују матурацију и минерализацију матрикса.

1.2.3. ГЛЕЋНО-ДЕНТИНСКА ГРАНИЦА

И ако се дуго сматрало да глејно-дентинска граница представља само инактивну површину, показано је да је то место на коме се одвијају бројни и сложени процеси између два ткива. Глејно-дентинска граница хуманих зуба има таласасту и зупчасту структуру, што омогућује кристалима хидроксиапатита, као и дентинским колагеним фибрилама међусобну комуникацију, што може утицати на повећање отпорности глејно-дентинске границе на оклузална оптерећења (10).

1.2.4. ПОКРОВНИ ДЕНТИН

Дебљина покровног дентина је око 5-30 μm . Органски матрикс покровног дентина се лучи током и одмах након терминалне фазе диференцијације одонтобласта и њихове просторне организације у посебан слој ћелија. Његова грађа се разликује од остатка дентина, јер га чине бројни мали разгранати дентински каналићи. Органски матрикс

покровног дентина се разликује од остатка дентина и садржи *von Korff*-ова влакна, која се углавном састоје од колагена типа III. Покровни дентин сиромашнији је минералима од циркумпулпалног дентина (12). Сматра се да покровни дентин утиче на еластична својства дентина неопходна да се супротстави оклузалним оптерећењима (13).

1.2.5. ПРИМАРНИ И СЕКУНДАРНИ ДЕНТИН

Примарни дентин формирају одонтобласти током развоја зуба. Након завршетка примарне дентиногенезе, након ницања, долази до спорог таложења дентина у облику секундарног дентина. Тачну границу и разлику између примарног и секундарног дентина, немогуће је уочити клинички, а понекад је тешко и хистолошком или микроскопском анализом.

Дентински матрикс је најсличнији коштаном ткиву. Око 90% дентинског матрикса чини колаген типа I, док остатак чине неколагени протеини, као што су протеоглици и други протеини, фактори раста и ензими, као и мала количина липида (10). Међутим, зрели хумани одонтобласти продукују колаген типа III, који је присутан у дентинским тубулама, као и код репаративног дентина (14, 15).

Тубуларна структура је једна од важних карактеристика дентина. Оваква структурна организација доприноси механичким својствима дентина, али утиче и на његове адхезивне карактеристике. Правац пружања дентинских каналића у корену зуба обично је праволинијски, за разлику од крунице зуба где се пружају у облику слова „S“. Дијаметар дентинских тубула у просеку износи од 1-3 μm (16). Густина и број дентинских каналића

варирају од 4900 до 90000 по квадратном милиметру (16). Густина дентинских каналића повећава се у апикално-коронарном смеру, као и од спољашње ка унутрашњој површини корена зуба. Сматра се да број дентинских тубула на споју глеђи и цемента износи око 15000 по квадратном милиметру.

Такође, уочене су и разлике у правцу пружања дентинских каналића између зуба у горњој и доњој вилици, што може утицати на различиту отпорност зуба на оклузално оптерећење (13). Највећа густина дентинских каналића је испод врхова квржица, где имају прави смер. Осим тога, запажено је и да су на тим местима одонтобласни продужеци најдужи (10).

1.2.6. ПЕРИТУБУЛАРНИ ДЕНТИН И СКЛЕРОЗА ДЕНТИНА

Перитубуларни дентин је високоминерализовано дентинско ткиво које се формира уз унутрашње зидове дентинских тубула. Формирање перитубуларног дентина током година, узрокује смањење лумена дентинских тубула, чак и код интактног дентина. Као последица овог процеса долази до повећања транспарентности дентина, која се повећава од врха корена ка круници зуба, током старења.

Такође, оклузија дентинских тубула може настати као последица изражене абразије или напредовања каријесне лезије, при чему долази до таложења минерала или минералних јона из правца пулпе посредством дентинске течности. Овај феномен се често назива „дентинска склероза“, мада се сматра да је прикладнији термин „реактивна (дентинска) склероза“ (10).

Перитубуларни дентин поседује ситне тубуларне гранчице, које омогућавају кретање течности дентинских тубула као и њених компоненти кроз перитубуларни дентин (17). С тога се сматра да перитубуларни дентин не представља само пасивну баријеру за дентинске тубуле, већ доприноси виталности па чак и ремоделацији минерализованог дентина.

1.2.7. ТЕРЦИЈАРНИ ДЕНТИН

Формирање терцијарног дентина настаје као последица одговора на спољашње надражаје као што су: каријес, абразија, ерозија, траума или препарација кавитета. Сматра се да као последица дејства каријеса или абразије, долази до ослобађања фактора раста из минерализованог дентина, који започињу и контролишу његово формирање. Терцијарни дентин представља минерализовану баријеру између оралних микроорганизама и других иританаса и пулног ткива, са циљем да очува виталитет пулног ткива и спречи његову инфекцију. Облик и структура терцијарног дентина зависе од интензитета и трајања спољашњег стимулуса.

Постоје две врсте терцијарног дентина: реакциони дентин кога стварају прави одонтобласти и репаративни дентин кога стварају новонастали заменски одонтобласти (11, 18).

Реакциони дентин има тубуларну структуру и најсличнији је секундарном дентину, за разлику од репаративног који је обично атубуларан. Репаративни дентин је углавном непропустан и представља баријеру између тубуларног дентина и ткива пулпе.

1.2.8. ДЕНТИН КАНАЛА КОРЕНА

Дентин канала корена смештен је испод цемента корена зуба и поседује одређене разлике у односу на дентин крунице зуба. Број дентинских каналића у коренском дентину је много мањи у поређењу са дентином локализованим у круници зуба, нарочито у апикалном региону (16, 19, 20). У апикалном делу корена зуба, дентин поседује бројне акцесорне коренске канале.

Склероза дентинских тубула као последица старења иницијално почиње у апикалном региону, а затим напредује у апикално-коронарном смеру (21). Сматра се да овај процес може бити један од главних фактора који утичу на пермеабилност дентина (22).

Дентин корена има и друге топографске разлике у пермеабилности, попут оне да дентин смештен са букалне и лингвалне стране корена има обично отворене дентинске каналиће, док дентински каналићи локализовани мезијално и дистално могу бити у потпуности испуњени минералима (22, 23). Описане структурне разлике могу бити последица локалне расподеле сила услед оклузалног оптерећења зуба (10).

1.2.9. ФИЗИОЛОШКЕ И ПАТОЛОШКЕ ПРОМЕНЕ У ДЕНТИНУ

Најважније и најчешће промене пулподентинског комплекса које настају током старења су облитерација пулпне коморе и коренских канала као последица спорог таложења дентина током година. Код секутића, очњака и премолара ове промене обично почињу иницијално у круници зуба, а затим напредују у апикалном смеру, док код молара

процеси таложења дентина почињу од пода пулпне коморе и напредују у коронарном смеру што за последицу има облитерацију пулпне коморе.

Утицај старења на механичке карактеристике дентина, још увек није у потпуности разјашњен. Најновија истраживања указују да минерализовани дентин не мора бити довољно чврст и отпоран, како се раније сматрало. Као резултат изражене минерализације дентина током старења, долази до промене у међусобном односу минерала и колагена, што може да утиче на тврдоћу дентина (24).

Осим старења, промене у дентину настају и као последица каријеса. Такав дентин обично садржи мање минерала, порозан је, измењена му је структура као и дистрибуција колагених и неколагених протеина (25). Као резултат структурних промена дентина, долази до повећања влажности, што значајно утиче на смањење његових механичких својстава, као што је тврдоћа, крутост, затезна чврстоћа, модул еластичности (25).

На промене у саставу и структури дентина које настају као последица старења или каријеса не можемо утицати. Међутим, да би спречили евентуалне последице, као што су фрактуре таквих зуба, можемо унапредити бројне ендодонтске и рестауративне поступке у свакодневној клиничкој пракси.

1.2.10. САСТАВ ДЕНТИНА КАНАЛА КОРЕНА

Дентин се састоји од око 45% неорганског, 33% органског материјала (првенствено колагена типа I) и 22% воде по волумену, односно 70% неорганског, 20% органског материјала и 10% воде тежински (26). Остале органске компоненте присутне су у мањој

количини: протеоглигани, неколагени протеини, цитрати, лактати и липиди који чине око 2% тежински. Утврђено је да се око 75,2% воде у дентину налази у дентинским тубулама, док је 24,8% локализовано у минерализованом матриксу.

Већи део неорганске материје тврђих зубних ткива чине кристали хидроксиапатита $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ који су састављени већином од јона калцијума и фосфора (27). Поред ових минерала у дентину се налазе и други минерали у траговима, као што су *Cu, K, Cl, Zn, Na, C, O, Fe, Sr, Mn* и *Zr* (28).

1.3. РАЗМАЗНИ СЛОЈ

Током механичке обраде канала корена на зидовима се формира размазни слој чија је улога предмет бројних расправа међу ендодонтистима (29). *McComb* је са сарадницима 1975. године први пут описао размазни слој који настаје као последица сечења и абразије дентина у току препарације и не постоји на неинструментисаним површинама канала корена (30). Америчко удружење ендодонтиста размазни слој дефинише као „површински слој који садржи нечистоће које остају на дентину и другим површинама након инструментације било машинским или ручним ендодонтским инструментима, који садржи дентинске честице, остатке виталног или некротичног ткива пулпе, делове бактерија и ретиниране остатке ириганса“ (31). Овај аморфни слој прекрива дентинске зидове и затвара улазе у дентинске каналиће. Понекад су делови размазног слоја потиснути у дентинске каналиће до дубине од неколико милиметара.

Размазни слој најчешће је састављен из два дела: суперфицијалног слоја који се налази на површини канала корена дебљине 1-2 μm и слабо адхерира за дентин и дубљег слоја, дебљине до 40 μm који чврсто адхерира са дентином и смештен је у дентинским каналићима (29).

На самом почетку инструментације размазни слој садржи веће количине органског материјала од остатака некротичног или виталног ткива пулпе, док се у каснијим фазама ендодонтске терапије формира у дебљем слоју и теже се уклања са зидова канала корена. Када се посматра под скенирајућим електронским микроскопом размазни слој често има аморфну, неправилну и зрнасту структуру.

1.3.1. ФАКТОРИ КОЈИ УТИЧУ НА ФОРМИРАЊЕ РАЗМАЗНОГ СЛОЈА

Размазни слој не постоји на површинама дентина које нису биле доступне каналним инструментима и последица је механичке препарације (30). Количина, састав као и дебљина размазног слоја зависе од бројних фактора као што су: морфологија каналног простора, избор ендодонтских инструмента за препарацију, технике препарације, количине и врсте ириганса, технике иригације (32, 33). Код ендодонтске терапије зуба са сложеном каналном морфологијом значајно је отежана манипулација инструментима, па долази до нагомилавања веће количине размазног слоја на појединим деловима канала корена које је тешко уклонити применом хелатних раствора. Такође, показано је да приликом коришћења ручних техника препарације канала корена долази до формирања мање количине и тањег размазног слоја, него када се користе машинске технике (34).

Уколико се при препарацији канала користе крунично-апексне технике препарације, које олакшавају приступ ендодонтским инструментима и бољи ефекат иригационих раствора, долази до стварања мање количине размазног слоја, чиме се остварује и квалитетнија дезинфекција канала корена (35). Показано је да у колико се препарација канала врши без употребе иригације, долази до заостајања око 70% размазног слоја на дентину канала корена (36).

1.3.2. ЗНАЧАЈ РАЗМАЗНОГ СЛОЈА

Предмет бројних расправа међу ендодонтистима је питање да ли је потребно уклањати размазни слој. Поједини аутори сматрају да присуство размазног слоја може утицати на смањење дентинске пропустљивости и представљати баријеру која ће затворити дентинске каналиће и на тај начин спречити продор бактерија и њихових токсина који могу да испоље своју патолошку активност (29). Ипак, већина аутора сматра да је размазни слој потребно уклонити.

Један од важнијих фактора који утичу на исход ендодонтске терапије је адекватна адхезија материјала за дефинитивну оптурацију за зидове канала корена. Бројна су истраживања о утицају размазног слоја на квалитет адхезије како у апикалном, тако и коронарном делу канала корена.

Доказано је да се након уклањања размазног слоја остварује боља адхезија материјала за дефинитивну оптурацију за зидове канала корена (37). Дубина пенетрације различитих силера за дефинитивну оптурацију износи од 10-80 μm у колико је уклоњен

размазни слој, за разлику од канала у којима није уклоњен размазни слој, где није забележена пенетрација силера (38, 39). Такође је показано да је након уклањања размазног слоја забележено значајно мање микроцурење дуж зидова канала и комуникација између усне дупље и периапикалних структура, без обзира на технике и материјале који су коришћени за дефинитивну оптурацију (40).

Као последица патолошких промена у зубној пулпи, бактерије, њихови токсини и нуспроизводи доспевају у канал корена зуба. Резултати бројних истраживања показују да се обољења пулпе и периапикалних ткива не развијају без присуства бактерија (4, 5). У зависности од фазе обољења пулпе или периапикалног ткива, из коренског канала се могу изоловати различите бактеријске врсте. Доминантни облици бактерија у инфицираним каналима су Грам-негативни анаеробни микроорганизми (4), који доспевају у канал корена директно преко пулпе (у случају трауме или каријеса) или индиректно, уколико постоји коронарно микроцурење. *Davis* и сарадници су показали да је морфологија каналног система врло комплексана и да након механичке препарације канала заостају подручја која нису доступна каналним инструментима (41). Бактерије њихови нус-продукти и некротично ткиво могу представљати резервоар иританаса који могу да доведу до оштећења периапикалних структура, али и да представљају погодну подлогу у којој расту и размножавају се бактерије (29, 30, 33).

Због комплексности грађе каналног система и немогућности да се све површине канала адекватно инструментирају, практично је немогуће обезбедити да канал корена буде без бактерија (42). Показано је да се заостале бактерије у инструментисаним и неоптурисаним каналима, могу умножити до свог почетног броја у року 2-4 дана (42), због чега су поједини аутори препоручили употребу интраканалних медикамената и према

томе терапију инфицираних канала корена у више од једне посете (43, 44). С обзиром да размазни слој затвара улазе у дентинске каналиће, на тај начин он спречава дејство интраканалних лекова, тј. утиче на смањену могућност дезинфекције канала и пенетрацију антимикробних средстава (45). Самим тим, његовим уклањањем смањује се време које је потребно да се испољи дезинфекциони ефекат интраканалних лекова (29).

Неке студије показују да бактерије и њихови нус-производи присутни у каналу корена зуба насељавају и дентинске тубуле (46-48). Бактерије су у дентинским тубулама преобладајуће локализоване близу половине удаљености од зида канала корена ка дентинско-цементној граници (49). На дубину продирања бактерија у дентинске тубуле утичу број и врста бактерија, дужина излагања, као и присуство размазног слоја.

1.3.3. МЕТОДЕ УКЛАЊАЊА РАЗМАЗНОГ СЛОЈА

Упркос различитим ставовима појединих аутора о утицају размазног слоја на квалитет инструментације, лековања и оптурације и доказа да овај слој може садржати бактерије, намеће се потреба за његовим уклањањем. Механичком инструментацијом се обликује коренски канал, делимично уклања инфицирани дентин и олакшава допремање каналних ириганаса, нарочито у апикалној трећини. Истовремено се задржава проходност коренског канала и очување интегритета зуба. Међутим, механичка инструментација мора бити комбинована са иригационим растворима који се додатно могу активирати, како би се омогућио адекватан дебриман коренског канала.

Компоненте размазног слоја су веома мале честице које заузимају велику површину канала корена и растворљиве су у киселинама.

Најчешће употребљивана средства за иригацију канала корена су натријум хипохлорит ($NaOCl$), етилендиаминотетраацетатна киселина ($EDTA$), лимунска киселина и хлорхексидин (CHX). Натријум хипохлорит има изражено оксидативно дејство, реагује са свим биомолекулима и на тај начин раствара органско ткиво (50). Хелатна или средства за деминерализацију, као што је $EDTA$ и лимунска киселина, чине другу главну групу ириганаса која се користи за уклањање размазног слоја. Везују се за јоне, формирајући прстенасте комплексе (51) и на тај начин растварају неоргански материјал (52).

Два су главна фактора од којих зависи ефикасна иригација: врста ириганса и начин допремања ириганса у канални систем. Хемијски ефекат иригационих раствора зависи од концентрације његове активне компоненте и дужине контакта. Међутим, њихова ефикасност зависи и од адекватног кретања и пенетрације ириганса кроз канални систем (53).

У подручјима у којима се не може остварити проток, ириганси се могу кретати пасивном дифузијом, али им је значајно ограничен хемијски и механички ефекат. Поред тога, у току иригације у затвореном каналном систему долази и до заробљавања мехурића ваздуха, што може да смањи доток ириганса у апикалну порцију канала (54). Највећи део размазног слоја је адхериран за зидове канала, па је за његово уклањање најчешће потребно додатно активирати ириганс, како би се побољшао њихов механички и хемијски ефекат на размазни слој.

Системи иригације канала корена могу се уопштено поделити на две групе: ручне методе иригације и методе потпомогнуте уређајима за активацију (55). Ручне методе подразумевају иригацију са позитивним притиском, и обично се врше помоћу шприца и игле за иригацију која поседује перфорације са бочне стране. Међутим, показано је да се оваквим начином иригације не може постићи адекватно чишћење површина које су биле недоступне каналним инструментима. Ефикасност оваквог вида иригације, може се повећати: пласирањем игле што ближе радној дужини каналне препарације, обрадом канала корена инструментима већег промера и коничности као и повећањем количине ириганса

Уређаји за активацију могу да користе наизменични и континуирани начин допремања ириганса у канални систем. Наизменични систем активације подразумева активацију ириганса након његовог допремања у канал и понавља се у више циклуса након сваког новог циклуса иригације, за разлику од континуираног којим се обезбеђује непрекидно допремање свежег ириганса у канални систем. Сматра се да су обе методе подједнако ефикасне у уклањању дентинског дебриса (55).

Такође, уређаји за активацију користе и два облика активације ириганса: пасивно (статичко) и активно (динамичко). Код пасивног начина иригације, ефикасност уклањања размазног слоја у великој мери зависи од дубине апликације игле за иригацију, за разлику од динамичког, који ради на принципу хидродинамског кретања течности, и чија дубина пенетрације зависи од типа инструмента и врсте кретње која се примењује за његову активацију.

Методе иригације потпомогнуте уређајима за активацију укључују звучну и ултразвучну активацију, као и новије системе који раде под притиском или ротацијом. Звучна активација подразумева активацију ириганса уз помоћ наставка који вибрира звучном фреквенцом (20Hz до 20kHz) при чему се ствара снажни хидродинамски ефекат.

Ултразвучни системи активације, раде на два начина. Један комбинује истовремено инструментацију и иригацију за разлику од пасивне ултразвучне иригације која не укључује истовремену инструментацију канала. Пасивна ултразвучна иригација се заснива на преносу ултразвучне силе на средство за иригацију у коренском каналу, при чему се стварају ултразвучни таласи, звучна струјања и кавитације. Истраживања су показала да активација ултразвучним системима ефикасније чисти и дезинфикује канални систем у поређењу са ручном инструментацијом и иригацијом (56).

Уређаји који раде на принципу промене притиска, повећавају допремање ириганса у апикалну порцију канала, јер допремају ириганс на радну дужину и смањују могућност заробљавања мехурића ваздуха у апикалном делу. Најзаступљенији системи за иригацију који раде под притиском су *RinsEndo* систем и *EndoVac*. За разлику од *RinsEndo* система који је базиран на технологији усисног притиска, *EndoVac* ради на принципу негативног апикалног притиска чиме је омогућено безбедно допремање ириганса на пуну радну дужину без ризика од пребацивања ириганса преко апекса (57, 58).

Без обзира који се систем иригације користи, требало би да омогући допремање ириганса до свих делова канала, нарочито апикалне трећине и омогући дебрман у подручјима која нису била доступна каналним инструментима, као што су бочни канали и истмуси.

1.4. ИРИГАНСИ У ЕНДОДОНТСКОЈ ТЕРАПИЈИ

Идеално средство које се користи за иригацију требало би да:

- испољава антибактеријско и фунгицидно дејство,
- не доводи до иритације периапикалног ткива,
- буде хемијски стабилно,
- поседује продужено антимикубно дејство,
- буде ефикасно у присуству крви, серумских и протеинских деривата ткива,
- у потпуности уклони размазни слој,
- поседује низак површински напон и способност да пенетрира у дентинске каналиће и изврши њихову дезинфекцију,
- не омета одвијање репарационих процеса у периодонцијуму,
- не пребојава зуб,
- не делује антигено, токсично и канцерогено на околне виталне структуре,
- нема негативан утицај на физичка и хемијска својства дентина,
- не омета адхезију материјала за дефинитивну оптурацију,
- да се једноставно припрема и апликује у обрађени канал (59).

До данас није произведен ни један ириганс који испуњава све наведене захтеве, па их је у свакодневној клиничкој пракси неопходно међусобно комбиновати.

Најчешће употребљивана средства за иригацију канала корена су су натријум хипохлорит (*NaOCl*), етилендиаминотетраацетатна киселина (*EDTA*), лимунска киселина и хлорхексидин (*CHX*) (59), док су се у новије време на тржишту појавили ириганси као што

су *QMix* и *MTAD*, који представљају мешавину више различитих компоненти са циљем да осим што делују органско- и минералолитички на канални детритус и размазни слој, испоље и антимикубно дејство.

Употреба *QMix* и *MTAD* као финалних ириганаса, требало би да поједностави поступак иригације, спречи међусобну интеракцију ириганаса, без штетног ефекта на механичке, физичке и хемијске карактеристике дентина канала корена.

1.4.1. НАТРИЈУМ ХИПОХЛОРИТ (*NaOCl*)

Натријум хипохлорит је раствор који је првобитно коришћен за избељивање и дезинфекцију. Због израженог антимикубног ефекта и способности да раствара органско ткиво, представља ириганс који се најчешће употребљава у току ендодонтске терапије (59). С обзиром на његов ефекат на меко ткиво *NaOCl* треба користити опрезно, без ризика од пребацивања ириганса преко апекса. У случају пребацивања раствора у периапикално ткиво може да се јави бол, едем, крварење, па чак и парестезија (60).

1.4.1.1. Механизам дејства *NaOCl*-а

Хемијска реакција *NaOCl*-а са органским ткивом одвија се кроз три фазе: сапонификација, у којој *NaOCl* раствара масне киселине претварајући их у глицерол и соли масних киселина; реакција неутрализације аминокиселина, у којој долази до формирања воде и соли, уз ослобађање хидроксилних јона, што доводи до пада *pH*; као и

реакција хлораминације, када хипохлорна киселина из $NaOCl$ дође у контакт са органским ткивом и делује као растварач, при чему долази до ослобађања хлора, који реагује са аминок- групом протеина формирајући хлорамин који ремети ћелијски метаболизам. Антибактеријски ефекат хлорамина заснива се на инхибиторном дејству на бактеријске ензиме што доводи до оксидације сулфхидрилних група. Хипохлорна киселина ($HOCl$ -) и јони хипохлорита (OCl -) доводе до разградње аминокиселина и хидролизе (61). $NaOCl$ је јака база са $pH=11$, на чему се и заснива његов антимикуробни ефекат.

1.4.1.2. Антимикробно дејство $NaOCl$ – концентрација и време

У ендодонтској терапији $NaOCl$ се користи у концентрацијама од 0,5% до 6%. У литератури не постоји јасна препорука о најбољој концентрацији за примену у ендодонтској терапији. Више концентрације $NaOCl$ боље растварају органско ткиво, али имају израженије токсично дејство (62). Токсичност раствора може се превазићи применом нижих концентрација, уз продужено време иригације и употребљену већу количину ириганса, при чему се постиже иста антимикуробна ефикасност и ефекат растварања органског ткива, као са високим концентрацијама (62). Ефекат $NaOCl$ се може интензивирати и загревањем раствора, звучном или ултразвучном активацијом (63). У колико се смањи концентрација примењеног раствора, као и време иригације, доћи ће до значајног смањења способности $NaOCl$ -а да пенетрира у дентинске тубуле и изврши њихову дезинфекцију (64). Додатком површински активних супстанци, којима се смањује површински напон, може се повећати дубина пенетрације $NaOCl$ у дентинске тубуле и брзина растварања ткива (52).

У присуству меког и дентинског ткива долази до ослобађања хлора и слабљења ефекта *NaOCl*, па је због тога неопходно континуирано обнављање раствора како би се осигурала ефикасна дезинфекција и растварање органског садржаја (62).

Супротно резултатима појединих *in vitro* студија који указују да високе концентрације *NaOCl*-а имају израженији ефекат на *E. Faecalis* и *C. Albicans* (65, 66), у *in vivo* условима, уочено је да и ниске и високе концентрације имају подједнаку ефикасност у елиминацији микроорганизама из коренског канала (45). *NaOCl* може да инактивише бактеријски ендотоксин, али је тај ефекат много мањи у поређењу са антибактеријским ефектом (62). Упоредо са показаним супериорним ефектом када је реч од антимикуробном дејству, *NaOCl* има и изражен цитотоксични ефекат (62).

1.4.1.3. Утицај *NaOCl* на дентин

С обзиром да око 20% дентина чине органске материје, иригација натријум хипохлоритом доводи до измена у његовим физичким и хемијским карактеристикама. Натријум хипохлорит може да утиче на смањење тврдоће дентина, смањење његове еластичности и отпорности на савијање, тиме што доводи до деградације његове органске компоненте (67, 68). Показано је да повећањем концентрације и времена излагања дентина дејству натријум хипохлорита, долази до значајног смањења његове микротврдоће (69). Међутим, смањење микротврдоће може настати и без обзира на примењену концентрацију *NaOCl* (69, 70). Значајно смањење тврдоће дентина након иригације *NaOCl* указује на директни ефекат овог ириганса на органски и минерални садржај дентина.

Примена 2,5%, 3%, 5%, 5,25% и 9% *NaOCl* у временским интервалима од 24 минута до 2 сата доводи до значајног смањења отпорности на савијање и модула еластичности дентина (67, 71, 72).

Ни Х и сарадници су, испитујући ефекат примене различитих концентрација и времена експозиције *NaOCl*-а на депротеинацију дентина, запазили да се са повећањем концентрације смањује однос *N/P* у дентину. Смањење односа *N/P* представља показатељ степена депротеинације, при чему време експозиције нема значајан утицај (73). За разлику депротеинације, декалцифицирајући ефекат *NaOCl*-а значајно се повећава након продуженог времена експозиције (69, 74).

1.4.1.4. Интеракција *NaOCl* са другим иригансима

Како *NaOCl* не делује на неорганске компоненте размазног слоја, препоручено је да се након завршене хемомеханичке обраде канала корена изврши финална иригација са неким од хелатних средстава како би се уклонили неоргански делови размазног слоја. Најчешће се у ту сврху примењује *EDTA*. Међутим, у колико дође до међусобног контакта *NaOCl* са појединим финалним иригансима, долази до њихове међусобне интеракције.

Као резултат интеракције *NaOCl* и *EDTA*, долази до губитка хлора као активне компоненте *NaOCl*-а, чиме се смањује антимикробна ефикасност и способност растварања ткива. Чак и најмања концентрација *EDTA* може узроковати овај ефекат.

Уочена је и интеракција између *NaOCl* и *CHX*, која доводи до пребојавања дентина и стварања наранцасто-браон талога који садржи парахлоранилин који поседује канцерогени ефекат и зависи од концентрације ириганса (75).

Такође, показано је да *MTAD* раствор реагује у присуству светлости са *NaOCl*, што доводи до браонкастог пребојавања дентина (76), као и да *QMix* у контакту са *NaOCl* може да доведе до промене боје самог раствора.

После иригације канала корена *NaOCl*, да би се спречила или бар смањила интеракција са другим иригансима, канал корена је потребно испрати дестилованом водом.

1.4.1.5. Недостатци *NaOCl*-а

И поред низа позитивних својстава *NaOCl*-а као што су: антимикуробно дејство, способност растварања органског ткива, лубрикациони ефекат, он поседује и неке недостатке: токсичност, корозивно дејство на ендодонтске инструменте и делује само на органски компоненту размазног слоја.

1.4.2. ЕТИЛЕНДИАМИНОТЕТРААЦЕТАТНА КИСЕЛИНА (*EDTA*)

Поред *NaOCl*-а један од најчешће коришћених ириганаса је *EDTA*, која се користи за уклањање неорганског дела размазног слоја (59).

1.4.2.1. Механизам дејства *EDTA*

Своје минералолитичко дејство испољава захваљујући способности да веже двовалентне и тровалентне металне јоне, као што су Ca^{2+} и Fe^{3+} . Један молекул *EDTA* веже максимално четири јона калцијума, при чему настаје релативно стабилни, у води растворљиви, хелатни комплекс.

1.4.2.2. Концентрација *EDTA* и дејство на размазни слој

Најчешће се користи у концентрацији од 15 до 17 % и при вредности *pH* од 7-8. За уклањање размазног слоја најчешће се користи концентрација од 17 %, али је показано да се и применом нижих концентрација *EDTA* након иницијалне иригације *NaOCl*-ом, такође ефикасно уклања размазни слој (77). У појединим истраживањима истиче се супериорнији ефекат 17% *EDTA* у уклањању размазног слоја у односу на друга хелатна средства, као што су 20% лимунска киселина и *MTAD* (78), или подједнака ефикасност са новим иригансом *QMix* (79).

1.4.2.3. Дејство *EDTA* на дентин

Осим што делује на размазни слој, *EDTA* може да доведе до деминерализације и ерозије дентина. Иригацијом канала корена употребом *EDTA*, долази до уклањања јона калцијума са површине дентина. Међутим, како би се одржала константна равнотежа и растворљивост раствора, долази до уклањања додатне количине калцијума, што за

последницу има деминерализацију дентина. Концентрација *EDTA* која се обично користи у ендодонцији (15-17%) може да веже 10,5 *gr* из 100 *gr* калцијума.

До деминерализације дентина долази за веома кратак временски период, док дубина деминерализације зависи од времена излагања. Повећањем времена, концентрације, као и *pH* раствора, повећава се и степен деминерализације дентина. На пример, применом 10 *ml* 17% *EDTA* у трајању од једног минута, ефикасно се уклања размазни слој, а ако се време излагања продужи на десет минута долази до изражених ерозија перитубуларног и интратубуларног дентина (80). Чак и након краткотрајног излагања дентина у трајању од једног до два минута, раствору 15% *EDTA*, а затим финалној иригацији 6% *NaOCl*, долази до изражене ерозије дентина (81).

Као и већина хелатних средстава која се користе у ендодонтској терапији, *EDTA* доводи до промена у микротврдоћи дентина. Ове промене најизраженије су у дентину непосредно уз лумен коренског канала. Након финалне иригације *EDTA* тврдоћа дентина се може смањити за око 20 *HV* (тврдоћа по *Vicker's*) (82). У истраживању Sayin и сарадника, иригација различитим хелаторима је након пет минута довела до значајног смањења микротврдоће дентина, али је највеће смањење забележено када се *EDTA* користи самостално или у комбинацији са 2,5% *NaOCl* (70).

Такође, показано је да иригација 17% *EDTA* у трајању од десет минута и 1% *NaOCl* у трајању од једног минута, утичу на смањење отпорности на лом корена зуба за око 1,5 пута, док ниже концентрације *EDTA* (5%) и краће време експозиције (један минут) резултирају значајно мањим смањењем отпорности на лом корена зуба (83).

1.4.3. MTAD

MTAD је први ириганс на тржишту који има способност да поред уклањања размазног слоја истовремено изврши и дезинфекцију каналног система (52, 84). Представља мешавину антибиотика (3% доксициклин), хелата (4,25 % лимунска киселина) и детергента (*Tween 80*). На тржишту се појављује под фабричким именом *BioPure MTAD* (*Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK, USA*) и добија се мешањем течности која се налази у шприцу и праха који се налази у боци, непосредно пре апликације. Када се замеша има рок трајања од 48 *h*, што је знатно краће у односу на друге коришћене иригансе. Не поседује способност растварања органског ткива и његова примена се препоручује као финални ириганс после целокупне хемомеханичке обраде канала корена (52, 84).

Стандардни протокол иригације препоручује апликовање 1 *ml* раствора који се активира ручним инструментом #15 у трајању од пет минута. Након тога је потребно извршити сукцију ириганса, а затим апликовати преосталих 4 *ml* раствора у трајању од пет минута (85). Међутим, због могуће деминерализације колагеног матрикса и ерозије, препоручено је да се време експозиције смањи на два минута (86).

1.4.3.1. Механизам дејства *MTAD*

У литератури не постоје подаци о тачном механизму деловања овог ириганса. Способност уклањања размазног слоја приписује се ниској вредности рН раствора (рН=2,15). Раствор ниске рН вредности делује као хелатор калцијума, узрокујући површинску деминерализацију. Способности уклањања размазног слоја доприноси и

деловање лимунске киселине из састава овог ириганса. Лимунска киселина уклања размазни слој и олакшава пенетрацију доксицилина у дентинске каналиће, где испољава своју антибактеријску активност.

Tween 80 је детерцент и нејонски сурфактант, чији је рН=7. Овај детерцент смањује површински напон раствора и на тај начин олакшава допремање ириганса у дентинске каналиће и дезинфекцију канала.

Антибактеријска ефикасност *MTAD* испољава се захваљујући деловању доксицилина, тетрацилина широког антибиотског спектра. Доксицилин свој бактериостатски ефекат испољава инхибицијом синтезе протеина и ирверзибилним везивањем за 30s рибозомску субјединицу микроорганизама (85).

1.4.3.2. Антимикробно дејство *MTAD*

Иако је у почетку истицана антимикробна ефикасност *MTAD* (84) и његова способност уклањања размазног слоја (79), у каснијим истраживањима оспораван је његов антибактеријски ефекат на микроорганизме присутне у каналу корена (87). Када се *MTAD* примењује после иницијалне иригације 1,3 % *NaOCl*, долази до смањења његовог антимикробног ефекта, вероватно због оксидације *MTAD* под дејством *NaOCl* (86). На смањење његове антибактеријске ефикасности може утицати и присуство дентина и серумских албумина у каналу корена зуба (52).

1.4.3.3. Дејство *MTAD* на размазни слој

У литератури постоје опречни резултати о ефекту овог ириганса на размазни слој. Поједини истраживачи истичу супериорнији ефекат овог ириганса на размазни слој у односу на најчешће коришћену *EDTA*, нарочито у апикалној трећини (79). Резултати других аутора указују на слабије изражену способност уклањања размазног слоја у односу на *EDTA* (78).

Ефикасније уклањање размазног слоја и антимикуробни ефекат у односу на друге иригансе објашњава се нисиким површинским напоном *MTAD* ($34,5 \text{ mJ/m}^2$). Услед тога *MTAD* може да оствари потпунији контакт са дентином канала корена и тиме повећа способност дубљег продирања ириганса у дентинске каналиће, као и дезинфекцију зидова канала и бољу и лакшу дифузију дејствених компонената интраканалних медикамената.

1.4.3.4. Утицај *MTAD* на дентин

Примена *MTAD* може значајно да редукује микротврдоћу дентина (88). Друге студије су показале да *MTAD* доводи до значајне деминерализације колагеног матрикса и ерозије дентина и дентинских тубула, због чега је и предложено да се време иригације овим раствором скарати на два минута (86). *Machnick* и сарадници су, испитујући ефекат финалне иригације *MTAD* на отпорност на савијање и модул еластичности дентина, уочили да употреба овог раствора не утиче штетно на физичке карактеристике изложеног дентина (89)

Утврђен је значајно мањи декалцифицирајући ефекат *MTAD* раствора у поређењу са другим најчешће коришћеним иригансима са антибактеријским дејством, који по свом саставу нису хелати, попут *NaOCl*, *CHX*, калијум јодид (74).

1.4.4. *QMix*

QMix је нови ириганс који се недавно појавио на тржишту. Поред детергента у његов састав улазе хлорхексидин и *EDTA* (79). Он комбинује предности *EDTA*, површински активне супстанце (сурфактанта) и *CHX*, са блажим ефектом на дентин. Поседује мању цитотоксичност од најчешће коришћених ириганаса (90). Препорука произвођача је да се користи као завршни ириганс у трајању од једног до једног и по минута, по завршеној стандардној иригацији 5,25 % *NaOCl*.

1.4.4.1. Антимикробно дејство *QMix*

QMix ефикасно елиминише *E. Faecalis* (91). Способност бактерицидног деловања *QMix* унутар дентинских каналића када је присутан размазни слој, а након излагања 6% *NaOCl* у трајању од десет минута, ефикаснија је од комбинације 6% *NaOCl*, 17 % *EDTA* и 2 % *CHX* (92).

1.4.4.2. Дејство *QMix* на размазни слој

Истраживања *Dai* и сарадника, као и *Eliot* и сарадника указују да *QMix* ефикасније уклања размазни слој у поређењу са *EDTA* (79, 93). Осим што ефикасно уклања размазни слој, повећава влажност дентина више од *EDTA*, који има лошију моћ квашења, што је највероватније последица дејства детерџента у *QMix*-у (94).

1.4.4.3. Утицај *QMix* на дентин

Декалцифицирајући ефекат *QMix* значајно је мањи у поређењу са *EDTA* (8, 9). При томе *QMix* испољава исти утицај на микротврдоћу дентина као и 17% *EDTA* и *MTAD* (95). Ерозивне промене у дентину након финалне иригације *QMix*-ом сличне су као и код *MTAD*, а много су мање у односу на финалну иригацију 17% *EDTA* (95).

1.5. УТИЦАЈ ИРИГАНАСА НА МИНЕРАЛНИ САСТАВ ДЕНТИНА

1.5.1. УТИЦАЈ ИРИГАНАСА НА *Ca* И *P* У ДЕНТИНУ КАНАЛА КОРЕНА

Заступљеност појединих минерала може указивати на бројне процесе који се одвијају у дентину. Процес кристализације кристала хидроксиапатита присутног у дентину и глеђи зависи од односа *Ca/P*, који представља релативну концентрацију *Ca* (тежински %) и *P* (тежински %). Обично се мери енергетско-дисперзивном спектроскопском анализом. Овом методом се може квантификовати концентрација

елемената на површини дентина и приказати као релативни износ од укупног садржаја елемената (100%) тежински (96).

Однос Ca/P у дентину и глеђи је приближно исти, а вредност му је у распону од 1,72 (27) до 2,5 (96). Овај однос у дентину варира у зависности од врсте и анатомске локализације, док је у глеђи ова варијација мања (27).

Промене у односу Ca/P на површини дентина, које настају као резултат ендодонтских интервенција / процедура, могу изменити оргинални однос између органске и неорганске компоненте. То доводи до промена у пропустљивости и растворљивости дентина и може имати утицај на адхезију материјала за тврда зубна ткива (27, 97).

У литератури постоје опречни резултати о утицају иригације на садржај ових минерала. Поједине студије истичу да *EDTA* утиче на смањење *Ca* (98, 99) и *P* у дентину (9, 98, 99). Резултати других студија показују да се иригацијом овим раствором не мења битно садржај *Ca* (9, 100, 101).

Неке студије указују да и нови ириганси као што су *MTAD* и *QMix* могу да уклоне *Ca* из дентина канала корена, али је њихов ефекат нешто слабији од оног забележеног када се за иригацију користи 17 % *EDTA* (8, 102). С друге стране нека истраживања показују да *MTAD* уклања више *P* (103), док *QMix* елиминише више *Ca* и *P* у поређењу са 17% *EDTA* (9). Многе од ових студија фокусиране су само на деминерализациони ефекат *MTAD* (74) или *QMix* (8, 9), и ако се у клиничким условима они користе након иригације *NaOCl*.

Наиме, показано је да $NaOCl$ може значајно да утиче на минерални састав коренског дентина (27). Такође, промене у минералном саставу дентина нису последица употребе хелатних агенса, већ употребе $NaOCl$ као ириганса (104).

1.5.2. УТИЦАЈ ИРИГАНСА НА Mg У ДЕНТИНУ КАНАЛА КОРЕНА

Магнезијум је минерал који игра значајну улогу у биоминерализацији костију и зуба. Средња концентрација Mg у дентину износи око 1%, глеђи 0,5%, у цементу 0,5% и 0,5% у коштаном ткиву. Магнезијум је саставни део хидроксиапатита локализованог у перитубуларном и интертубуларном дентину.

Магнезијум у дентину може бити везан за фосфат, карбонат или органски матрикс. У току деминерализације дентина, прво долази до губитка овог минерала, чак пре Ca и P (105). Mg може заменити Ca у апатиту кости и зуба, али често у току процеса реминерализације не долази до обнављања овог минерала.

Индиректно, магнезијум утиче на метаболизам минерала преко ензима и других фактора, нпр. активирањем алкалне фосфатазе или директно, утицајем на процес кристализације неорганских минерала, изменом величине кристала и димензија кристалне решетке. У мањем броју истраживања показано је да ириганси испољавају различит утицај на садржај Mg у дентину канала корена.

Показано је да иригација лимунском киселином, 17% $EDTA$ и $QMix$ не мења његов садржај у дентину (9, 100). Супротно резултатима ових студија *Dogan i Calt* (27) су

показали да комбинација $NaOCl$ и хелатног средства (*Rc-prep* и *EDTA*), утиче на повећање овог минерала, при чему самостална примена сваког од њих не мења његов однос.

1.5.3. УТИЦАЈ ИРИГАНАСА НА S У ДЕНТИНУ КАНАЛА КОРЕНА

Сумпор је маркер протеогликана, а доказано је да има улогу у процесу минерализације. Осим тога, промене у нивоу овог минерала могу указивати и на оштећења органске компоненте матрикса (106). У литератури тренутно постоји само једна студија у којој је испитиван утицај иригације на садржај овог минерала. Резултати ове студије показали су да иригација 17% *EDTA* и 10% лимунском киселином доводи до смањења количине овог минерала у дентину канала корена (100).

1.5.4. УТИЦАЈ ИРИГАНАСА НА K, Na, O И C У ДЕНТИНУ КАНАЛА КОРЕНА

У доступним литературним подацима, постоји релативно мало резултата студија других аутора о улози калијума који је присутан интрацелуларно (106). Подаци о присуству натријума и кисеоника такође су оскудни (107).

$NaOCl$ и *CHX* смањују садржај калијума у дентину, док *EDTA* утиче на његово повећање (101). У супротности са резултатима предходне студије, *Cobankara* и сарадници су показали да финална иригација *EDTA* и 10% лимунском киселином не утичу на садржај овог минерала у дентину (100). Утицај финалне иригације на садржај натријума је различит. *Cobankara* и сарадници су показали да иригација 17% *EDTA* не мења ниво *Na*,

за разлику од 10% лимунске киселине која утиче на његово смањење (100). Супротно резултатима предходне студије *Kolosowski* и сарадници наводе да *NaOCl* и *EDTA* утичу на повећање, док од *CHX* нема утицај на садржај натријума (101).

Угљеник и кисеоник су елементи који представљају показатеље органског садржаја дентина (99). У истраживању *Ballal* и сарадника уочено је да иригација са *QMix* и *EDTA* не утиче на промену садржаја кисеоника у дентину, док *EDTA* уклања значајно више угљеника у односу на *QMix* (9). Супротно налазима предходне студије, енергетско дисперзивно спектроскопском анализом у студији *Wang* и сарадника показано је да иригација дентина са *NaOCl* и *EDTA* у трајању од два минута доводи до повећања садржаја угљеника и кисеоника, при чему је тај ефекат израженији ако се *NaOCl* користи након финалне иригације *EDTA* (99).

2. ЦИЉ И ХИПОТЕЗА СТУДИЈЕ

2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ

2.1. ЦИЉ СТУДИЈЕ

Узимајући у обзир да у литератури постоји релативно мали број *in vitro* студија у којима се испитује утицај каналних ириганаса на уклањање размазног слоја и промене у минералном саставу дентина, постављени су следећи циљеви истраживања:

1. Применом скенирајуће електронске микроскопије (*SEM*) утврдити ефикасност уклањања размазног слоја у апикалној, средњој и коронарној трећини канала корена, након иницијалне иригације *NaOCl* и финалне иригације *EDTA*, *MTAD*, *QMix* и дестилованом водом
2. Применом скенирајуће електронске микроскопије (*SEM*) упоредити ефикасност уклањања размазног слоја у апикалној, средњој и коронарној трећини канала корена, након иницијалне иригације *NaOCl* и финалне иригације *EDTA*, *MTAD*, *QMix* и дестилованом водом
3. Применом енергетско-дисперзивне спектроскопије (*EDS*) утврдити промене у количини дентинских минерала у апикалној и коронарној трећини канала корена у неинструментираној групи, као и у групама у којима је након иницијалне иригације *NaOCl* примењена финална иригације *EDTA*, *MTAD*, *QMix* и дестилованом водом.
4. Применом енергетско-дисперзивне спектроскопије (*EDS*) упоредити промене у количини дентинских минерала у апикалној и коронарној трећини канала корена у

неинструментираној групи, као и у групама у којима је након иницијалне иригације *NaOCl* примењена финална иригација *EDTA*, *MTAD*, *QMix* и дестилованом водом

2.2. ХИПОТЕЗЕ

У складу са наведеним циљевима истраживања, постављене су следеће истраживачке хипотезе:

1. Након финалне иригације у *MTAD*, *QMix* и *EDTA* групи на зидовима канала корена присутна је мања количина размазног слоја у односу на контролну групу (дестилована вода у кораку финалне иригације)
2. Финална иригација *MTAD* ефикасније уклања размазни слој на зидовима канала корена од *EDTA*
3. Финална иригација *QMix* ефикасније уклања размазни слој на зидовима канала корена од *EDTA*
4. Финална иригација *MTAD* доводи до мањих измена минералног састава дентина у односу на *EDTA*
5. Финална иригација *QMix* доводи до мањих измена минералног састава дентина у односу на *EDTA*.

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ ИСТРАЖИВАЊА

3.1. ИЗБОР И ПРИПРЕМА УЗОРКА

Истраживање је спроведено као рандомизована експериментална студија у *in vitro* условима на екстрахованим зубима. Употребу зуба у експерименталне сврхе одобрио је Етички одбор Медицинског факултета у Фочи, Универзитета у Источном Сарајеву (број: 01-1122/2). Коришћени су једнокорени зуби са правим кореновима и једним коренским каналом, који су екстраховани из пародонтолошких или ортодонтских разлога.

Након екстракције, применом ултразвука и четкица, зуби су очишћени од меких наслага, каменца и остатака меких ткива и чувани у 0,9% физиолошком раствору на температури од 4°C, највише месец дана до почетка експеримента.

Прикупљено је 130 екстрахованих зуба, од којих је на крају одабрано 50 зуба који су одговарали свим критеријумима за укључивање у студију. У студију су укључени једнокорени зуби, одговарајуће дужине коренског дела, без каријеса или оштећења у вратном делу зуба, без знакова периапикалног процеса или ресорпције корена, и са потпуно формираним апексом. Зуби са каријесним лезијама, незавршеним растом корена, са калцификацијама у каналу и знацима екстерних/интерних ресорпција нису укључени у истраживање.

Крунице свих зуба су уклоњене дијамантским диском (*Isomet 1000; Buehler, Lake Bluff, IL*) са воденим хлађењем у пределу глеђно-цементне границе, тако да дужина свих коренова износи 17 mm. Коренови зуба су затим убачени у отисну масу (*Optosil™*,

Haraeus Kulzer, Germany) постављену на стаклену плочицу, како би се спречило истицање ириганса преко апекса.

За процену иницијалне проходности и одређивање радне дужине каналне препарације коришћене су К-турпије број 15, коничности 2% (*Dentsply/Maillefer, Ballaigues, Switzerland*). Радна дужина одређена је на удаљености 1 mm од анатомског отвора корена зуба.

3.2. ИНСТРУМЕНТАЦИЈА И ИРИГАЦИЈА КАНАЛА КОРЕНА

Користећи таблице случајних бројева зуби су подељени у четири групе ($n=10$) у зависности од финалног ириганса који ће се користити након инструментације канала корена.

Инструментацију канала корена обавио је један оператор како би сви канали били на исти начин обрађени. Препарација канала корена извршена је крунично апексном „*crown-down*“техником, машинским ротирајућим инструментима *ProTaper Universal* (*Dentsply, Maillefer, Switzerland*) (слика 1). Апексна препарација вршена је до величине #40 (F4) и коничности 6%. Током препарације за редослед и број коришћених инструмената поштована су упутства произвођача. За активирање машинских ротирајућих инструмената коришћен је електрични мотор *X-Smart* (*Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Switzerland*) и редукциони микроколењак (16:1), са уједначеном брзином ротације од 300 обртаја у минути и контролом обртног момента од 1,4 Ncm (слика 2).



Слика 1. ProTaper Universal (Dentsply, Maillefer, Switzerland)



Слика 2. X-Smart ендомотор (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Switzerland)

Иригација између сваког следећег инструмента је вршена помоћу пластичног шприца са иглом за иригацију величине 30-G (*Endo-Eze Tips, Ultradent, South Jordan, UT, USA*). Игла је пласирана на 1 mm краће од радне дужине. Током инструментације након сваког инструмента, канал је испран са по 2 ml одговарајуће концентрације *NaOCl* (*Semikem, Sarajevo, BiH*), а након инструментације са 5 ml *NaOCl* у трајању од 2 min.

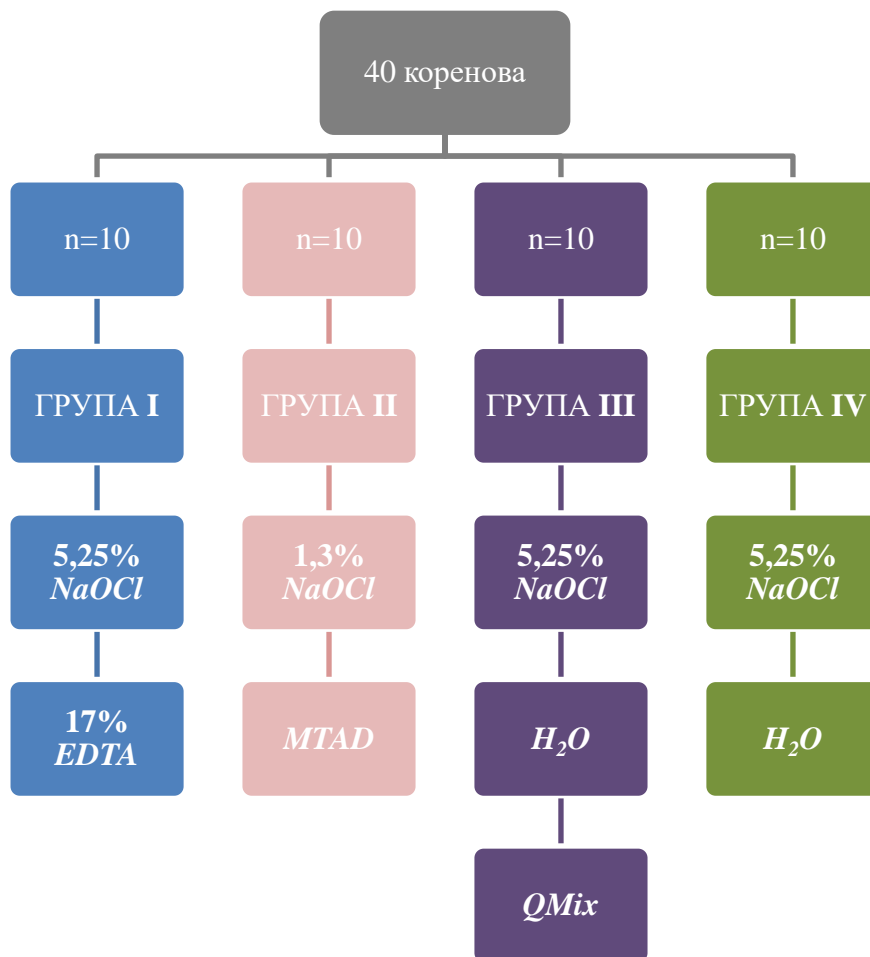
На основу ириганса који је коришћен у току и након инструментације канала корена узорак од 40 зуба је подељен у четири групе (слика 3):

Група I ($n=10$): Након сваког инструмента канал корена је испран са по 2 ml 5,25% *NaOCl*, а након завршене хемомеханичке обраде канал је иригиран са 5 ml 5,25% *NaOCl* у трајању од два минута. Као финални ириганс коришћен је 5 ml 17% *EDTA* (*Pulpdent EDTA Solution; Pulpdent, Watertown, MA*) у трајању од два минута (слика 4).

Група II ($n=10$): Након сваког инструмента канал је испран са по 2 ml 1,3% *NaOCl*, а након последњег коришћеног инструмента канал је иригиран са 5 ml 1,3% *NaOCl* у трајању од два минута. Нижа концентрација *NaOCl* у овој групи је коришћена на основу препорука произвођача о примени *MTAD* као финалног ириганса. Након иригације *NaOCl* у групи II као финални ириганс коришћен је 5 ml *MTAD* (*Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK*) у трајању од два минута (слика 5).

Група III (n=10): Након сваког инструмента канал корена је испран са по 2 ml 5,25% *NaOCl*, а након последњег коришћеног инструмента канал је иригиран са 5 ml 5,25% *NaOCl* у трајању од два минута. Како би се спречила интеракција *NaOCl* са финалним иригансом, канали корена су испрани са 5 ml дестиловане воде у трајању од два минута. За финалну иригацију коришћено је 5 ml *QMix* (*DENTSPLY Tulsa Dental Specialties, Tulsa, OK, USA*) у трајању од два минута (слика 6).

Група IV (n=10): Након сваког инструмента канал корена је испран са по 2 ml 5,25% *NaOCl*, а након последњег коришћеног инструмента канал је иригиран са 5 ml 5,25% *NaOCl* у трајању од два минута. У контролној групи уместо финалног ириганса коришћено је 5 ml дестиловане воде у трајању од два минута (слика 7).



Слика 3. Шематски приказ протокола иригације

Након завршене инструментације и иригације канали корена су посушени стерилним папирним поенима (*Paper Points ProTaper Universal F2 (#25), Dentsply, Maillefer, Switzerland*) и чувани у стерилним Петријевим шољама до анализе.



Слика 4. 17% EDTA (*Pulpdent EDTA Solution; Pulpdent, Watertown, MA*)



Слика 5. MTAD (*Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK*)



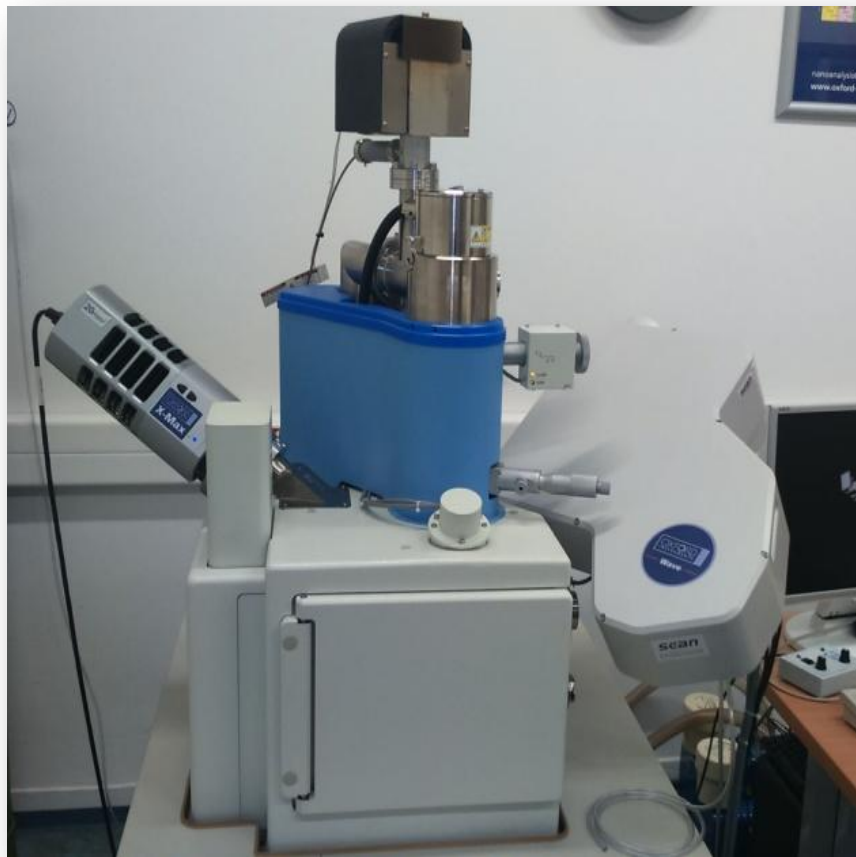
Слика 6. *QMix (DENTSPLY Tulsa Dental Specialties, Tulsa, OK, USA)*



Слика 7. Стерилна дестилована вода

3.3. СКЕНИРАЈУЋА ЕЛЕКТРОНСКО МИКРОСКОПСКА АНАЛИЗА (SEM) ЕФИКАСНОСТИ УКЛАЊАЊА РАЗМАЗНОГ СЛОЈА

Испитивање је обављено у лабораторији за скенирајућу електронску микроскопију, Рударско-геолошког факултета Универзитета у Београду на скенирајућем електронском микроскопу (*JEOL-JSM-661 OLV, Токуо, Јапан*) (слика 8).



Слика 8. *JEOL-JSM-661 OLV* микроскоп

На букалној и лингвалној површини корена, дијамантским диском (*Edenta AG, AU/SG, Switzerland*) уз водено хлађење, направљени су танки уздужни жлебови, водећи рачуна да не дође до перфорације канала. Затим су уз помоћ длета уздужно подељени на две приближно једнаке половине.

За *SEM* анализу коришћена је половина корена са мањим бројем неправилности где је очувана апикална трећина корена. На површини корена зуба усечени су и плитки хоризонтални жлебови на растојању 5 *mm*, 10 *mm* и 15 *mm* од врха корена, како би се за сваки узорак прецизније одредила тачка која ће се посматрати под микроскопом, по трећинама канала (слика 9). На тај начин је искључена имогућа пристрасност посматрача приликом одабира регије за посматрање под микроскопом.



Слика 9. Попречни пресек корена

Узорци су затим припремани користећи ултразвук и дестиловану воду у трајању од 20 минута, након чега су остављени да се суше на температури од 37°C у току 24 h (слика 10). Након тог периода, подвргнути су растућим концентрацијама етанола (25%, 50%, 60%, 70%, 80% и 96%) у трајању од по 20 минута, а затим 100% концентрацији у трајању од 1 h.



Слика 10. Припрема узорака у ултразвучној кади

Одабране половине коренова сваког узорка постављене су на алуминијумске носаче помоћу специјалне лепљиве траке (слика 11).



Слика 11. Алуминијумски носач узорака

Припрема узорака урађена је у условима ниског вакума (*Low vacuum SEM*). Након тога, узорци су напаривани златом (*Leica EM SCD005 Sputter Coater, Leica Microsystems*) дебљине 20 *nm* у трајању од 100 *s* и јачини од 33 *mA* (слика 12,13).



Слика 12. Припрема узорка напаривањем златом



Слика 13. Припремљени узорци за *SEM* анализу

Микрографије централне регије, на нивоима који су предходно обележени хоризонталним усецима, начињене су при увељачању од 500X, 1000X и 2000X.

На фотомикрографијама начињеним при увељачању од 2000X, оцењивана је количина размазног слоја присутна на зидовима канала корена (семи-квантитативна метода), за сваку трећину канала. Коришћена је скала за оцењивање (слика 14) са следећим критеријумима (108):

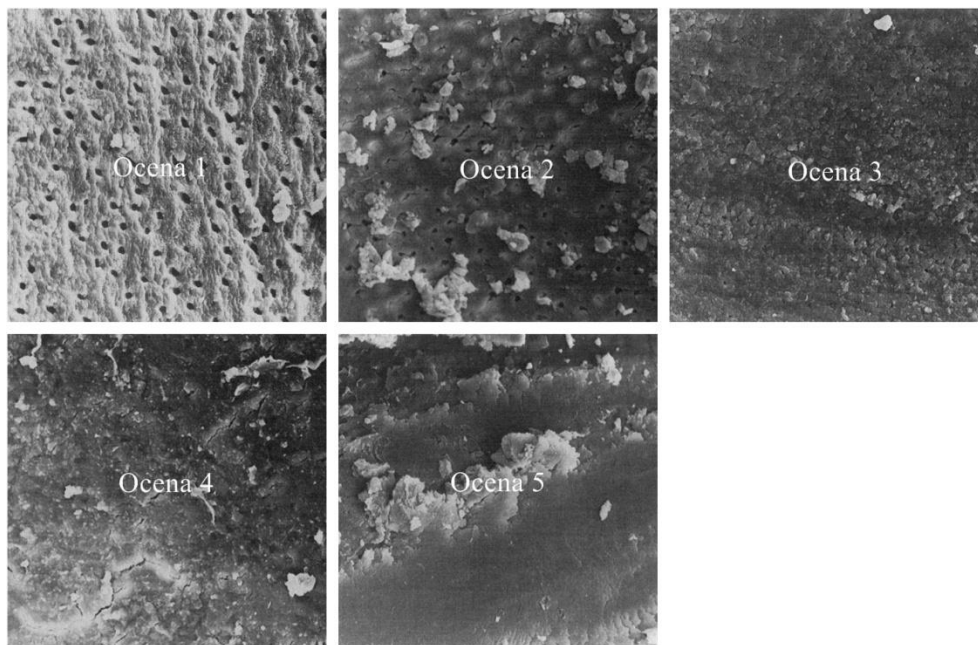
Оцена 1 = размазни слој није присутан, сви дентински тубули су отворени и не садрже остатке дебриса

Оцена 2 = на зидовима канала корена је присутна мала количина размазног слоја и само неколико дентинских тубула је видљиво

Оцена 3 = Зидове канала корена прекрива хомогени размазни слој, и видљиво је само неколико дентинских тубула

Оцена 4 = зидови канала корена у потпуности су прекривени хомогеним размазним слојем, без видљивих дентинских тубула

Оцена 5 = на зидовима канала корена је присутна велика количина не хомогеног размазног слоја



Слика 14. *Hülsmann* скала за оцењивање размазног слоја

Чистоћу зидова по трећинама канала, оцењивала су према горе наведеној скали два истраживача, независно један од другог. Током анализе фотомикрографија истраживачима нису били познати ириганси коришћени у току ендодонтске терапије. У колико су се оцене разликовале, поновљен је поступак оцењивања за спорне узорке и постигнут консензус.

3.4. ЕНЕРГЕТСКО ДИСПЕРЗИВНА СПЕКТРОСКОПСКА АНАЛИЗА (EDS) МИНЕРАЛНОГ САСТАВА ДЕНТИНА

За процену минералног састава дентина, поред предходно наведене четири експерименталне групе, у студију је укључена још једна група ($n=10$), у којој узорци нису инструментирани, како би се спречило стварање размазног слоја на зидовима канала корена и на тај начин омогућило мерење садржаја минерала на интактном дентину канала корена. Критеријуми за укључивање у студију били су исти као и у предходним експерименталним групама. Након што су уз помоћ длета коренови уздужно подељени на приближно једнаке половине, остаци пулног ткива су уклоњени помоћу танке четкице. Узорци из ове групе су припремљени на стандардни начин за посматрање под *SEM*-ом као и узорци из предходних група. Укупан узорак за анализу минералног састава дентина садржао је 50 коренова (40 који су коришћени за процену количине размазног слоја и 10 неинструментираних).

Након процене количине размазног слоја на зидовима канала корена, одређиван је ниво минерала на површини дентина уз употребу енергетског-дисперзивног спектрометра (*EDS*). Количина минерала *Ca*, *P*, *Mg*, *S*, *K*, *Na*, *O* и *C* присутних на површини дентина анализирана је у коронарној и апикалној трећини канала, при увећању од 300X. Свака трећина је означена у центру и на два друга суседна подручја на истом растојању при напону од 20 *kV* у трајању од 60 секунди. Израчуната је средња вредност атомског процента сваког елемента.

3.5. СТАТИСТИЧКА МЕТОДОЛОГИЈА

Статистичка анализа је извршена помоћу статистичког програма *SPSS*, верзија 20.0 (*IBM Corp., Armonk, NY, USA*). Узимајући у обзир да вредности елемената у дентину нису пратиле нормалну расподелу (*Kolmogorov-Smirnov* тест), разлике између група и унутар група су одређене коришћењем *Kruskal-Wallis* теста са *Dunn post hoc* тестом или *Mann Whitney-U* теста. Приликом одређивања скорa размазног слоја међуистраживачка и унутар истраживачка поузданост одређена је применом *Kappa* теста. Ниво значајности је износио 5%.

4. РЕЗУЛТАТИ

4. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

4.1. SEM АНАЛИЗА ЕФИКАСНОСТИ УКЛАЊАЊА РАЗМАЗНОГ СЛОЈА

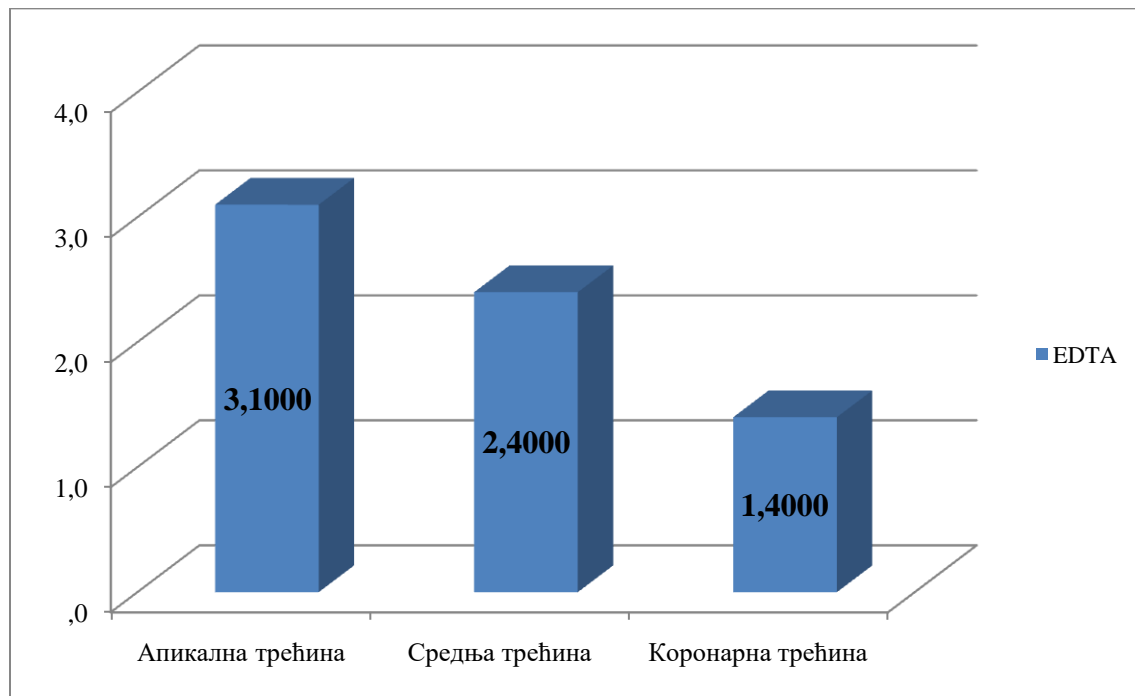
Испитивање ефикасности уклањања размазног слоја са унутрашњих зидова канала корена применом скенирајуће електронске микроскопије, обављено је проценом количине заосталог размазног слоја на зидовима дентина. Примењена је семиквантитативна анализа на увећању 2000x, у апикалној (на удаљености 5 *mm* од апекса корена), средњој (на удаљености 10 *mm* од апекса корена) и коронарној (на удаљености 15 *mm* од апекса корена) трећини канала корена.

Резултати ове анализе приказани су у табелама 1-8, на графиконима 1-7 и на сликама 15-26.

4.1.1. Уклањање размазног слоја након финалне иригације *EDTA*

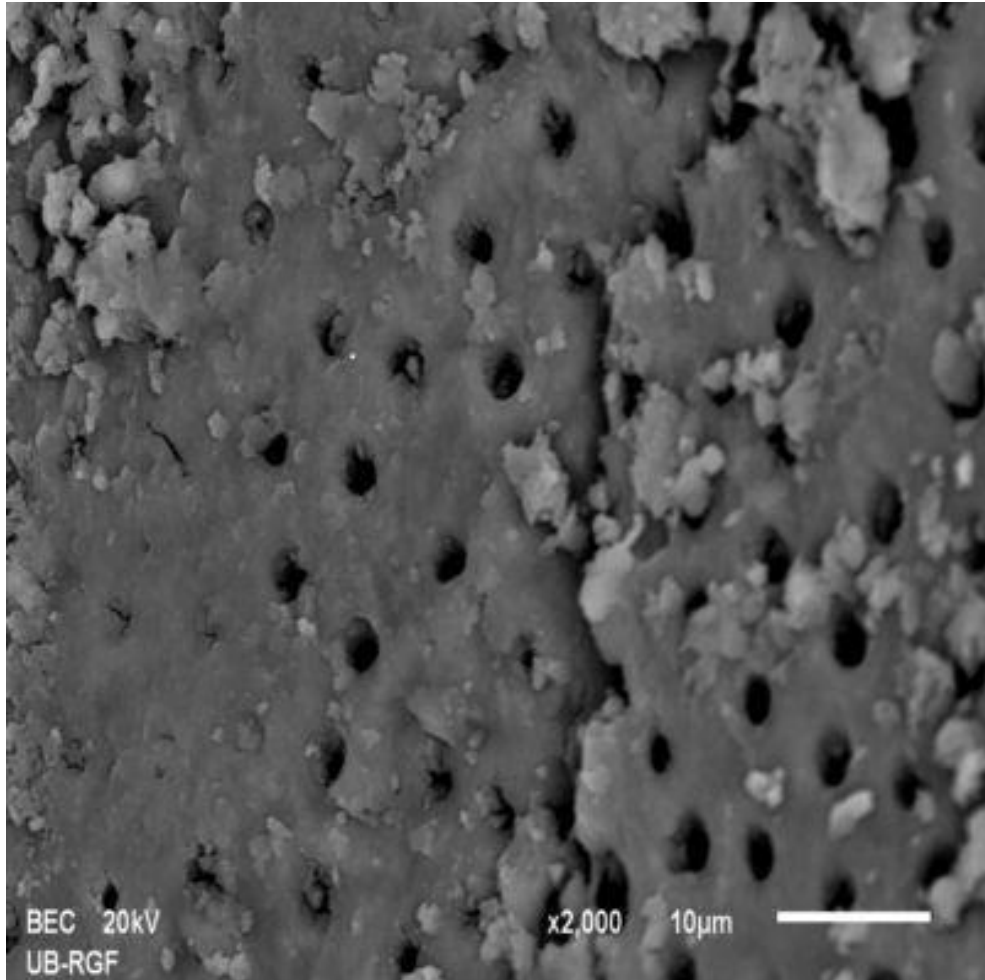
Просечне вредности количине размазног слоја присутне у апикалној, средњој и коронарној трећини канала корена након финалне иригације *EDTA* приказане су на графикону 1. и сликама 15, 16 и 17.

SEM анализом показано је да *EDTA* раствор није у потпуности уклонио размазни слој ни у једној испитиваној трећини. Највећа количина размазног слоја била је присутна у апикалној (3,10), затим у средњој (2,40), а најмања у коронарној (1,40) трећини канала.

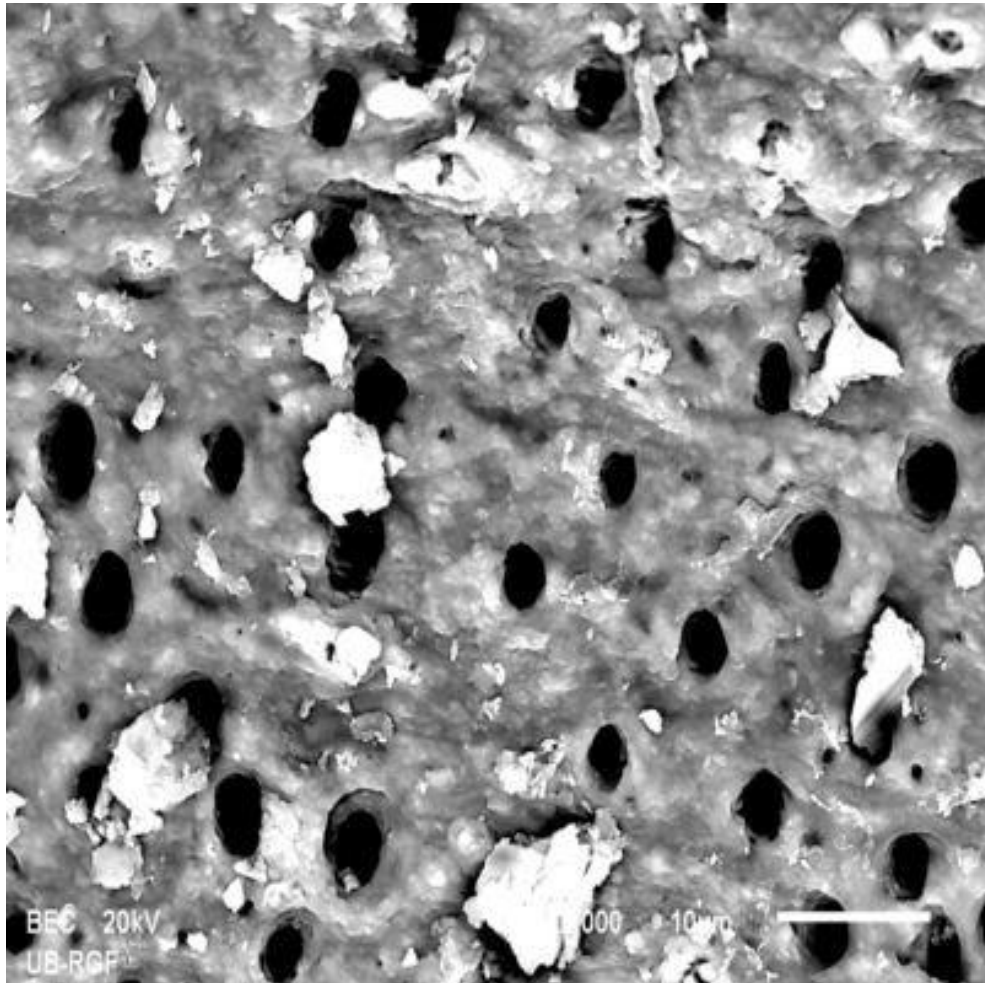


Графикон 1. Вредности размазног слоја након иригације *EDTA*

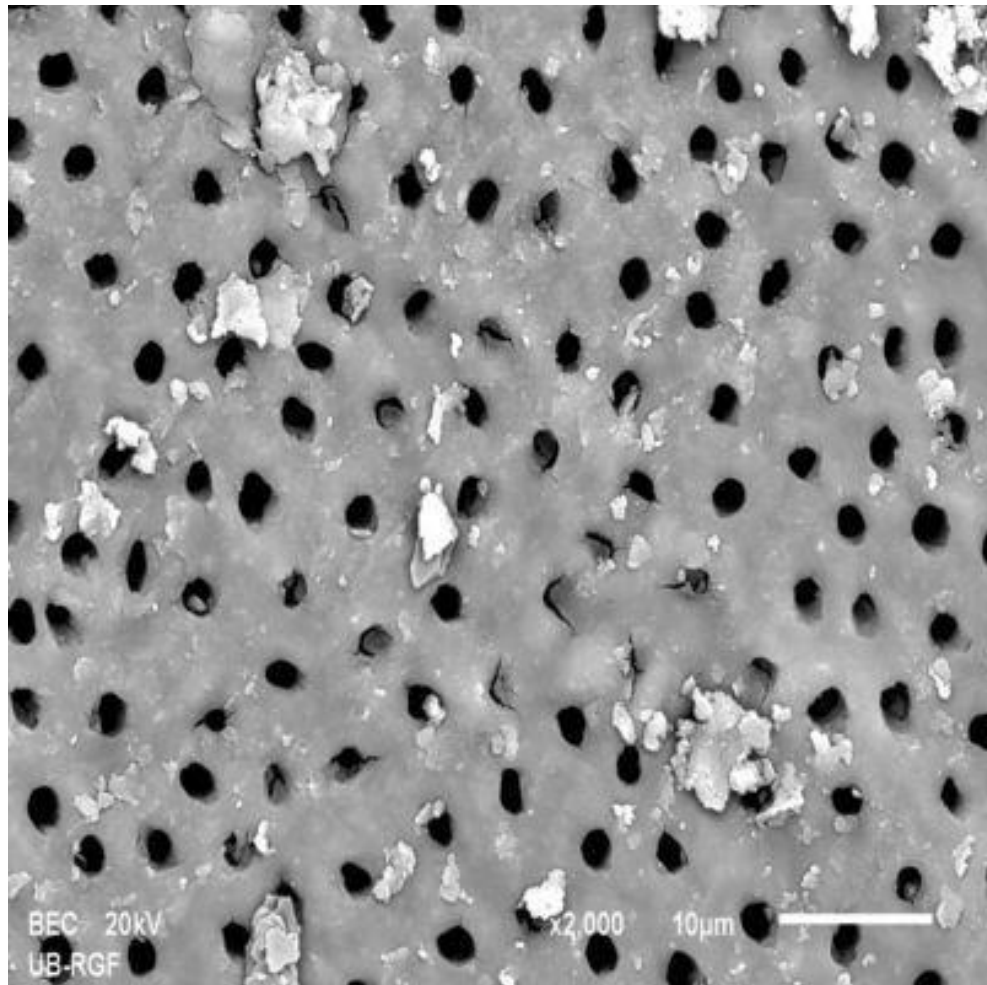
У коронарној трећини канала количина размазног слоја била је значајно мања у односу на средњу и апикалну трећину ($p < 0,05$). Није уочена статистички значајна разлика у ефикасности уклањања размазног слоја након финалне иригације *EDTA* између средње и апикалне трећине канала корена ($p > 0,05$).



Слика 15. Репрезентативна *SEM* микрографија површине коренског дентина у апикалној трећини канала корена након финалне иригације *EDTA*



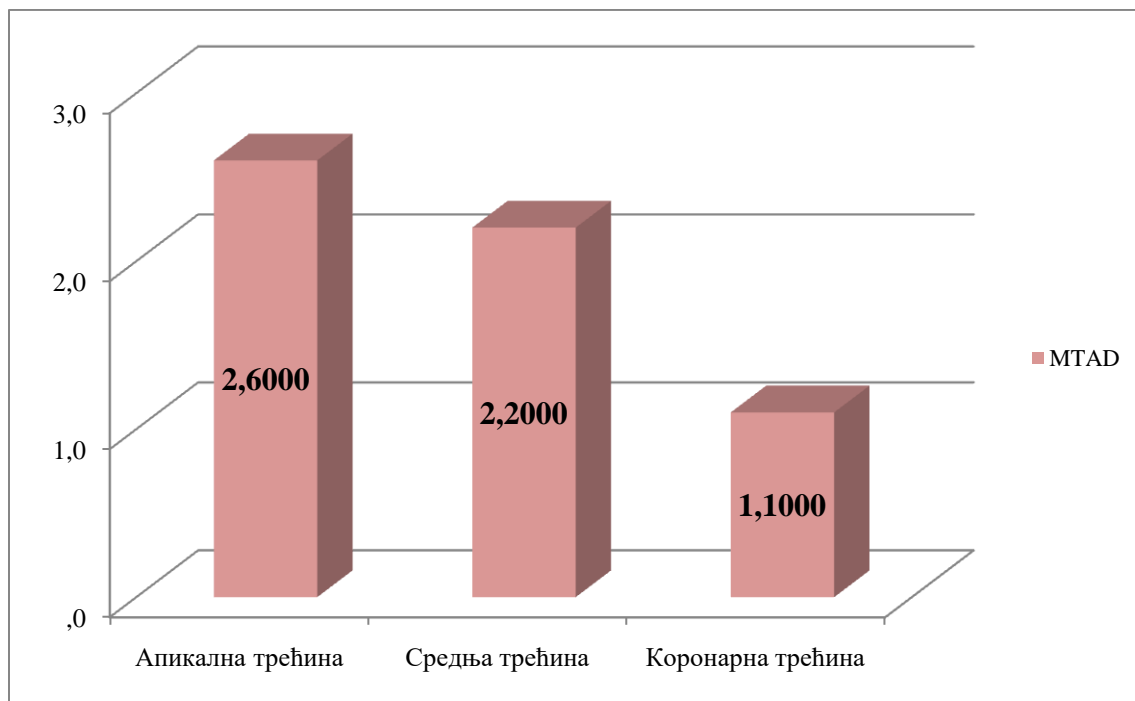
Слика 16. Репрезентативна *SEM* микрографија површине коренског дентина у средњој трећини канала корена након финалне иригације *EDTA*



Слика 17. Репрезентативна *SEM* микрографија површине коренског дентина у коронарној трећини канала корена након финалне иригације *EDTA*

4.1.2. Уклањање размазног слоја након финалне иригације *MTAD*

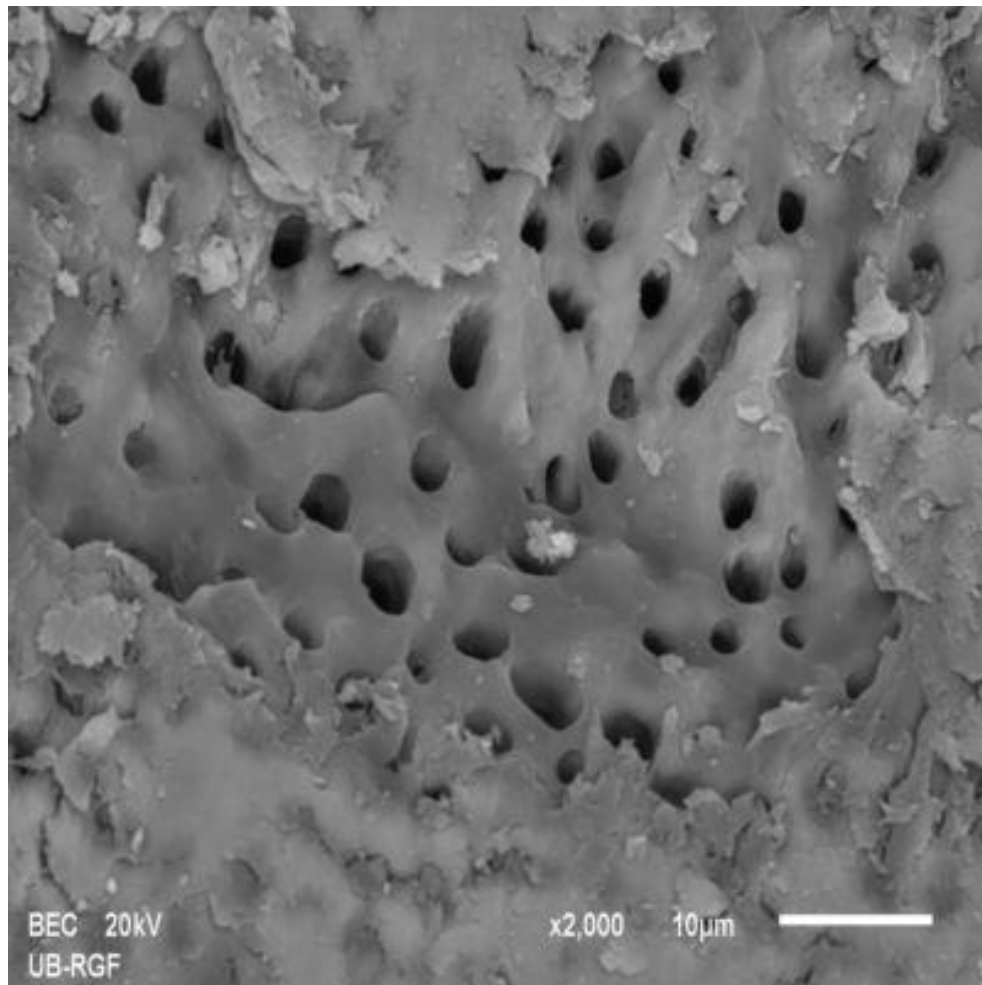
Просечне вредности количине размазног слоја присутне у апикалној, средњој и коронарној трећини канала корена након финалне иригације *MTAD* приказане су на графикону 2. и сликама 18, 19 и 20.



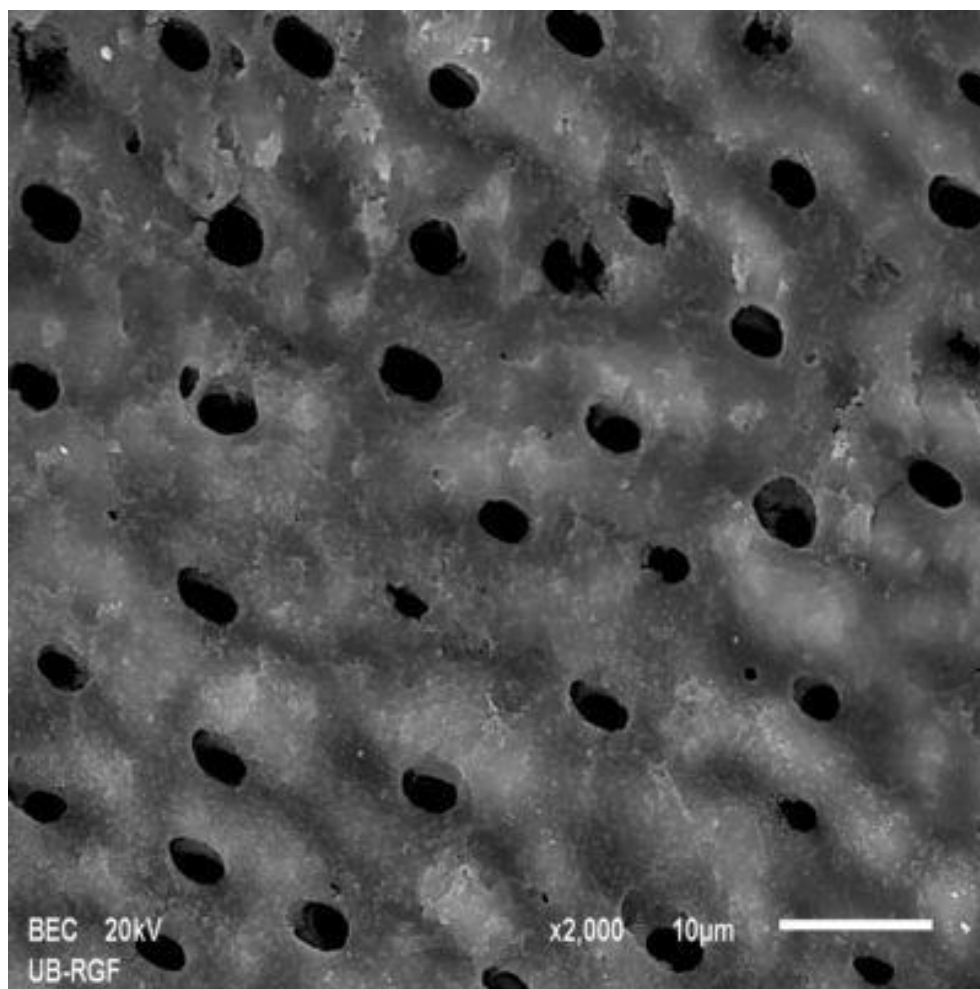
Графикон 2. Вредности размазног слоја након иригације *MTAD*

MTAD раствор није у потпуности уклонио размазни слој ни у једној испитиваној трећини канала. Најмање вредности размазног слоја забележене су у коронарној (1,10), а нешто веће у средњој (2,20) и апикалној (2,60) трећини.

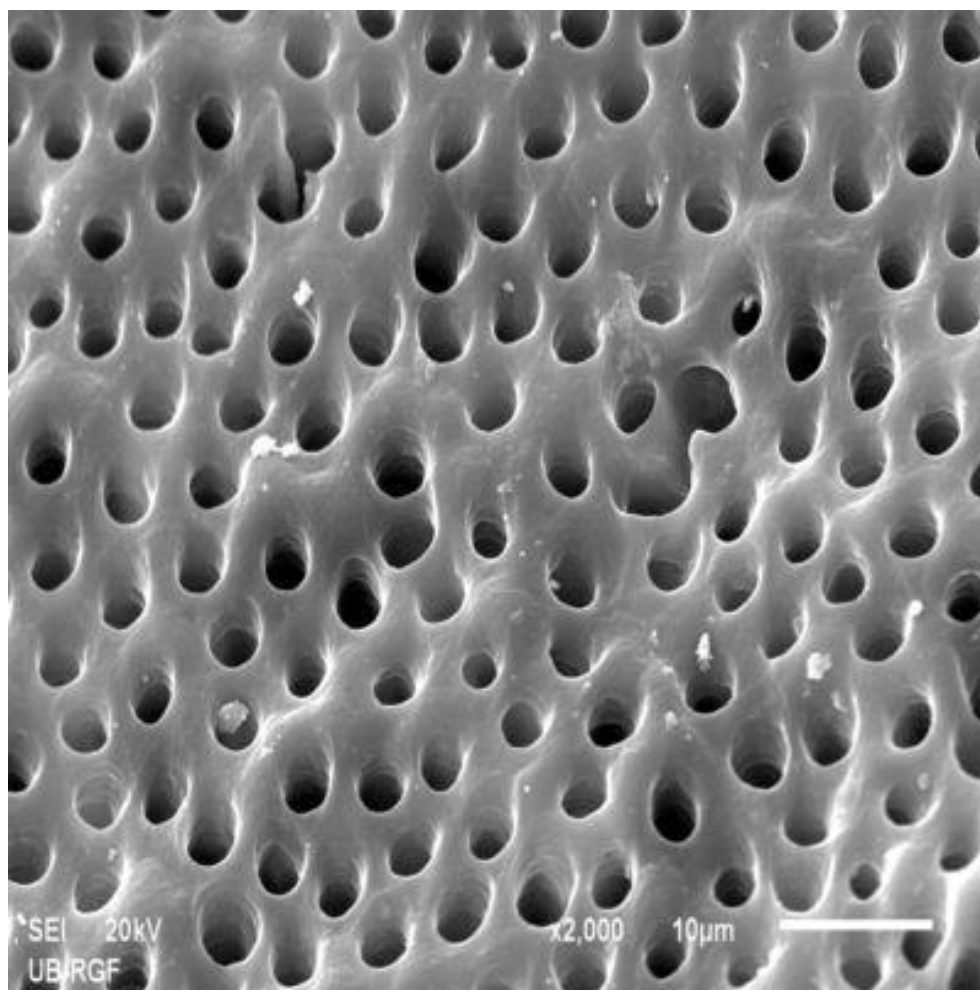
Статистички значајно мања количина размазног слоја била је присутна у коронарној, у поређењу са апикалном трећином канала корена ($p < 0,05$). Ефикасност у уклањању размазног слоја након финалне иригације *MTAD* била је приближно иста између коронарне и средње, као и средње и апикалне трећине ($p > 0,05$).



Слика 18. Репрезентативна *SEM* микрографија површине коренског дентина у апикалној трећини канала корена након финалне иригације *MTAD*



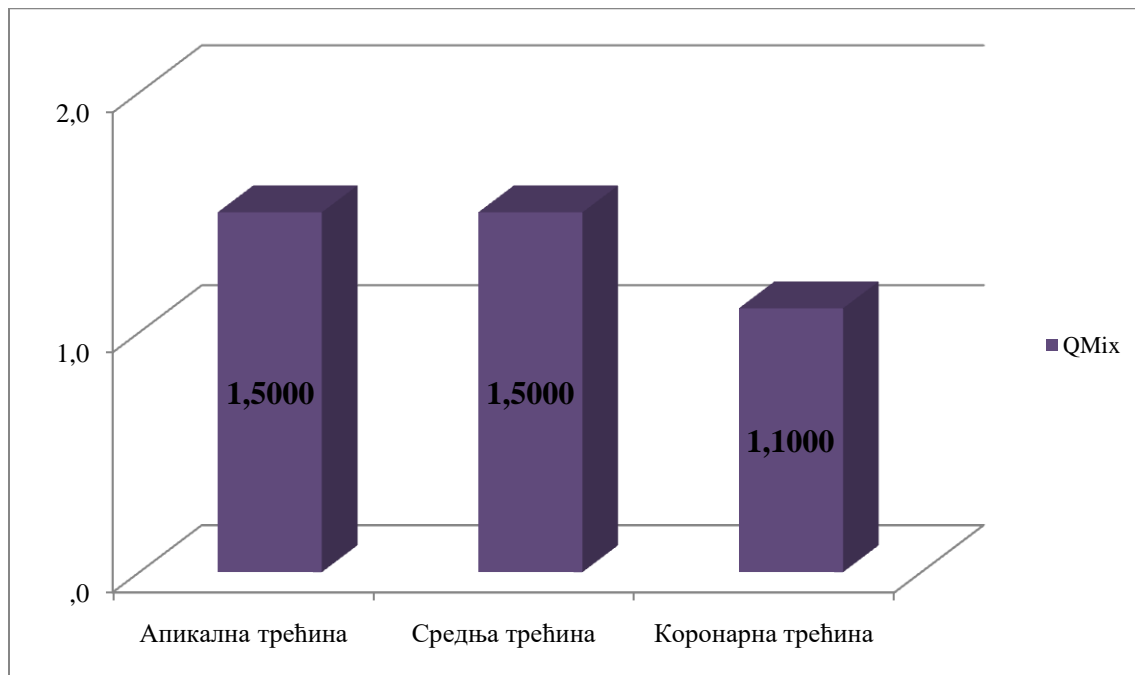
Слика 19. Репрезентативна *SEM* микрографија површине коренског дентина у средњој трећини канала корена након финалне иригације *MTAD*



Слика 20. Репрезентативна *SEM* микрографија површине коренског дентина у коронарној трећини канала корена након финалне иригације *MTAD*

4.1.3. Уклањање размазног слоја након финалне иригације *QMix*

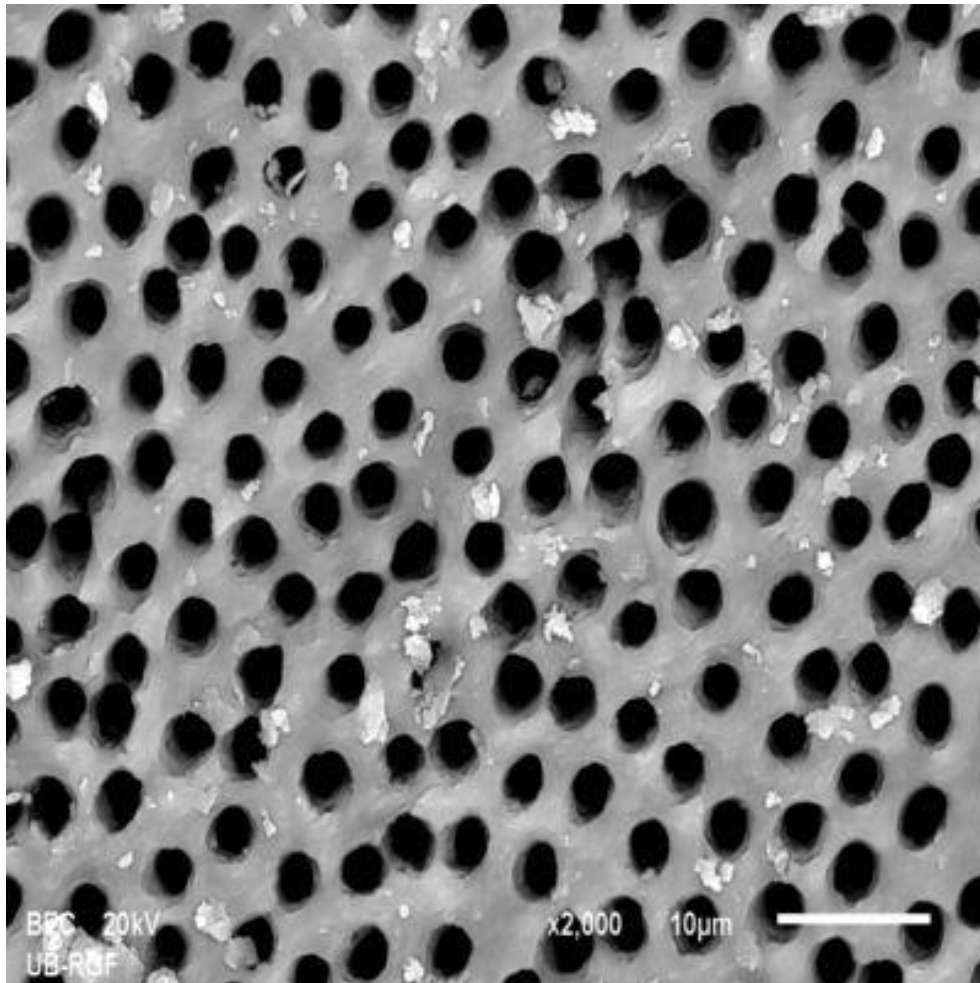
Просечне вредности количине размазног слоја присутне у апикалној, средњој и коронарној трећини канала корена након финалне иригације *QMix* приказане су на графикону 3. и сликама 21, 22 и 23.



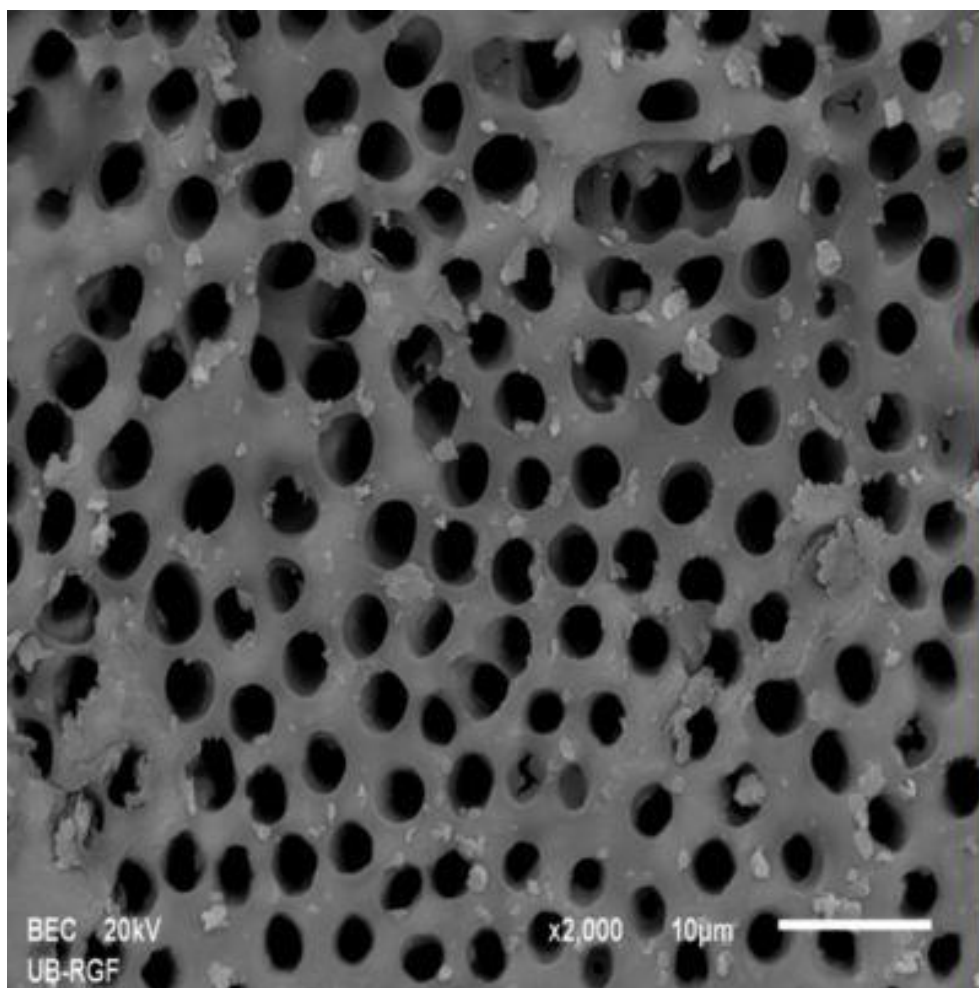
Графикон 3. Вредности размазног слоја након иригације *Qmix*

Просечна вредност количине размазног слоја након финалне иригације *QMix* била је иста у апикалној и средњој трећини канала (1,50), док је у коронарној трећини та вредност била нешто мања (1,10).

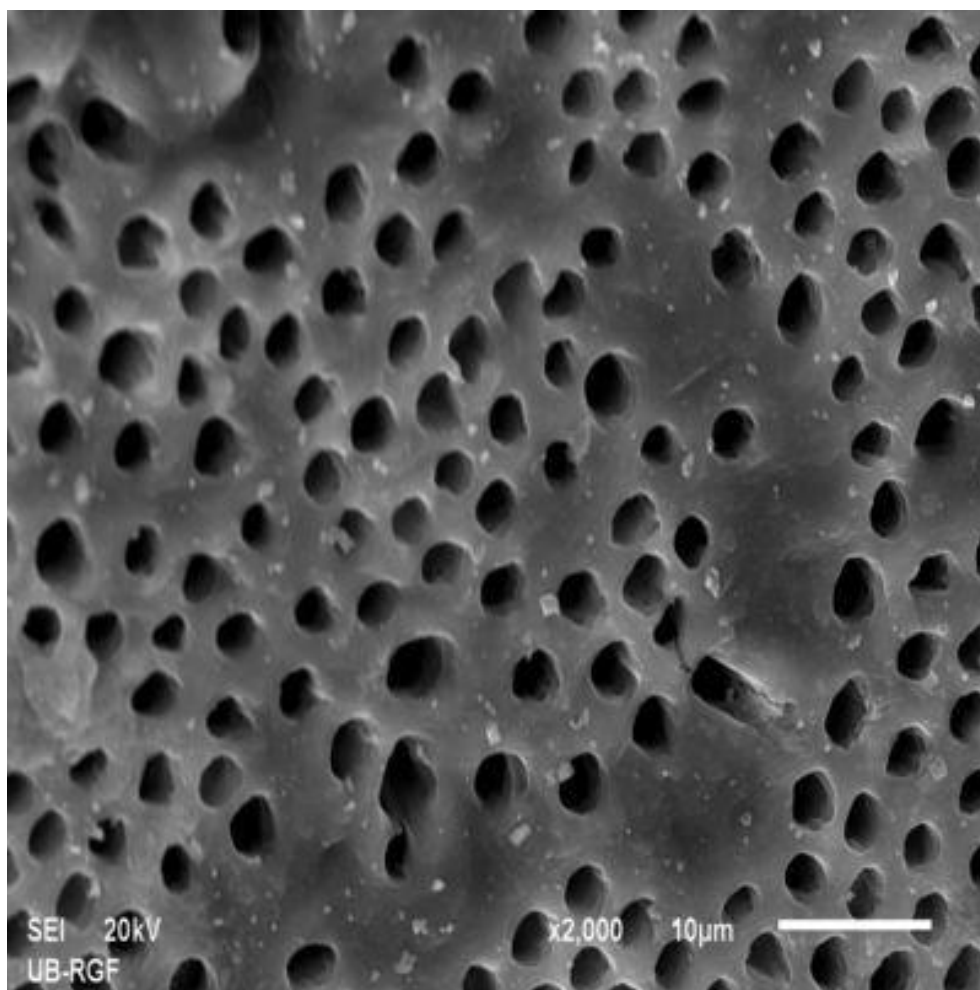
Статистичком анализом података није утврђена значајна разлика у количини размазног слоја између испитиваних трећина након финалне иригације *QMix* ($p>0,05$).



Слика 21. Репрезентативна *SEM* микрографија површине коренског дентина у апикалној трећини канала корена након финалне иригације *QMix*



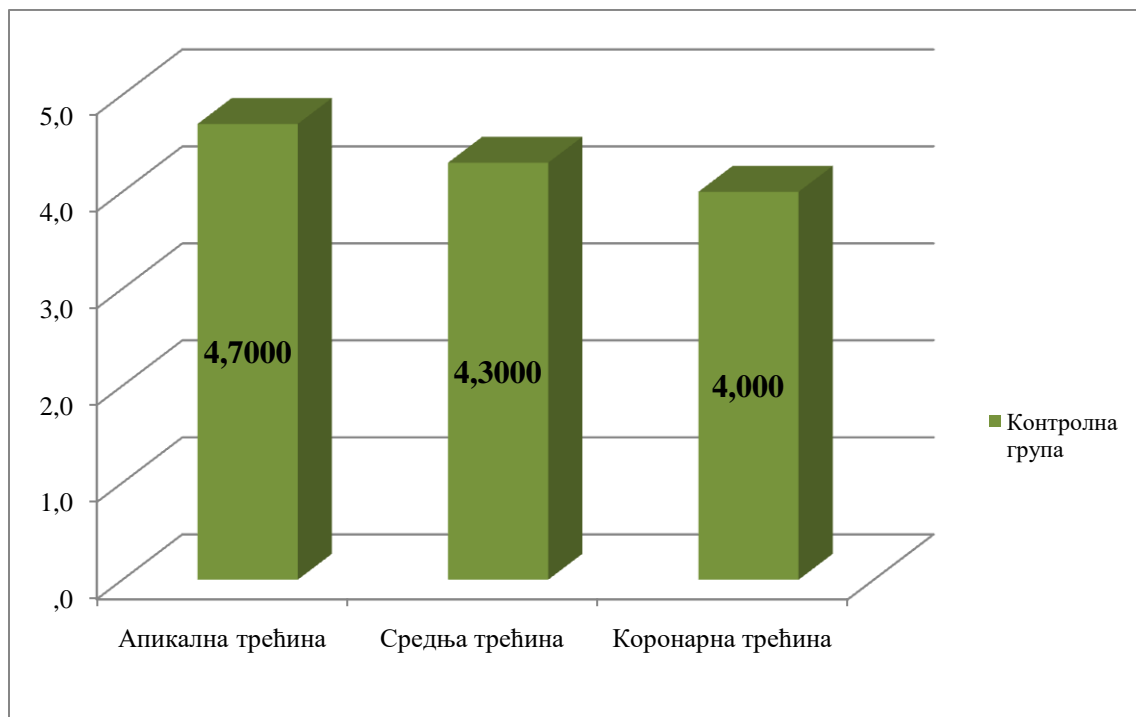
Слика 22. Репрезентативна *SEM* микрографија површине коренског дентина у средњој трећини канала корена након финалне иригације *QMix*



Слика 23. Репрезентативна *SEM* микрографија површине коренског дентина у коронарној трећини канала корена након финалне иригације *QMix*

4.1.4. Уклањање размазног слоја након финалне иригације у контролној групи

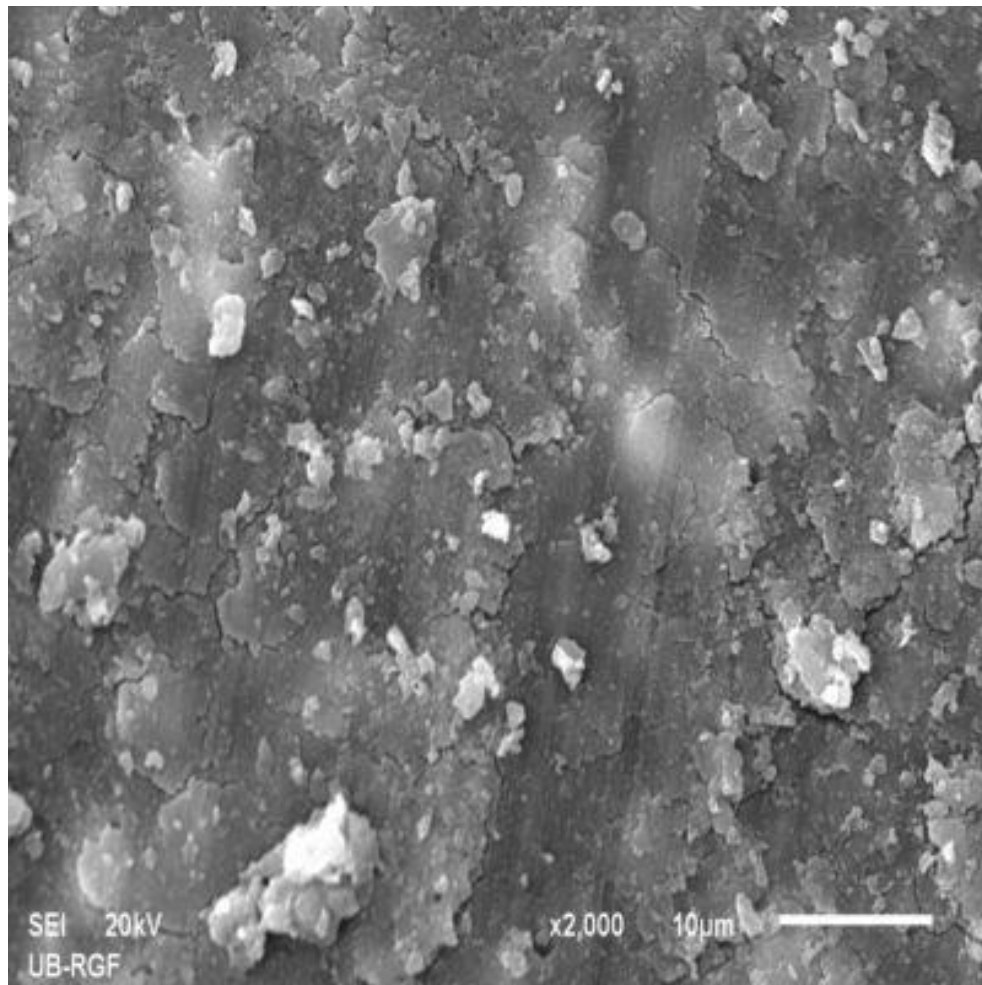
Просечне вредности количине размазног слоја присутне у апикалној, средњој и коронарној трећини канала корена у контролној групи приказане су на графикону 4. и сликама 24, 25 и 26.



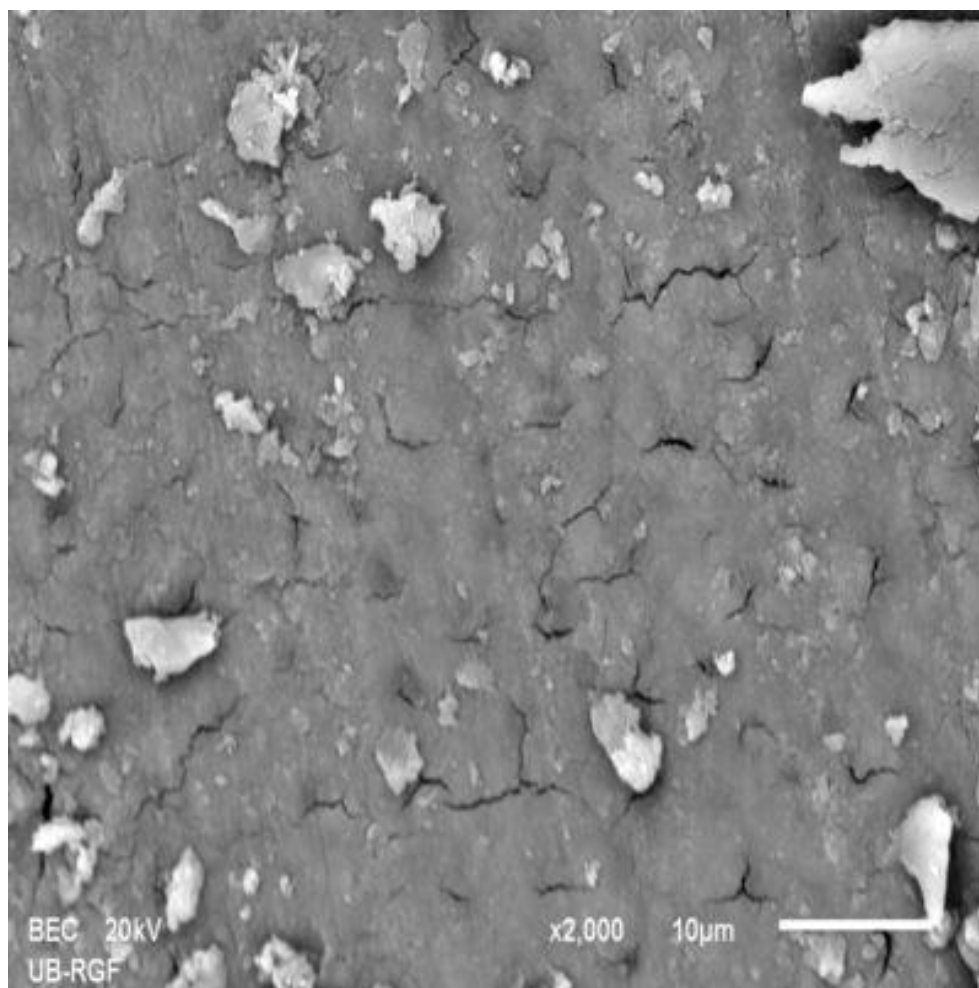
Графикон 4. Вредности размазног слоја у контролној групи

На анализираним узорцима контролне групе запажа се размазни слој који прекрива целокупну површину дентина у свим коренским трећинама.

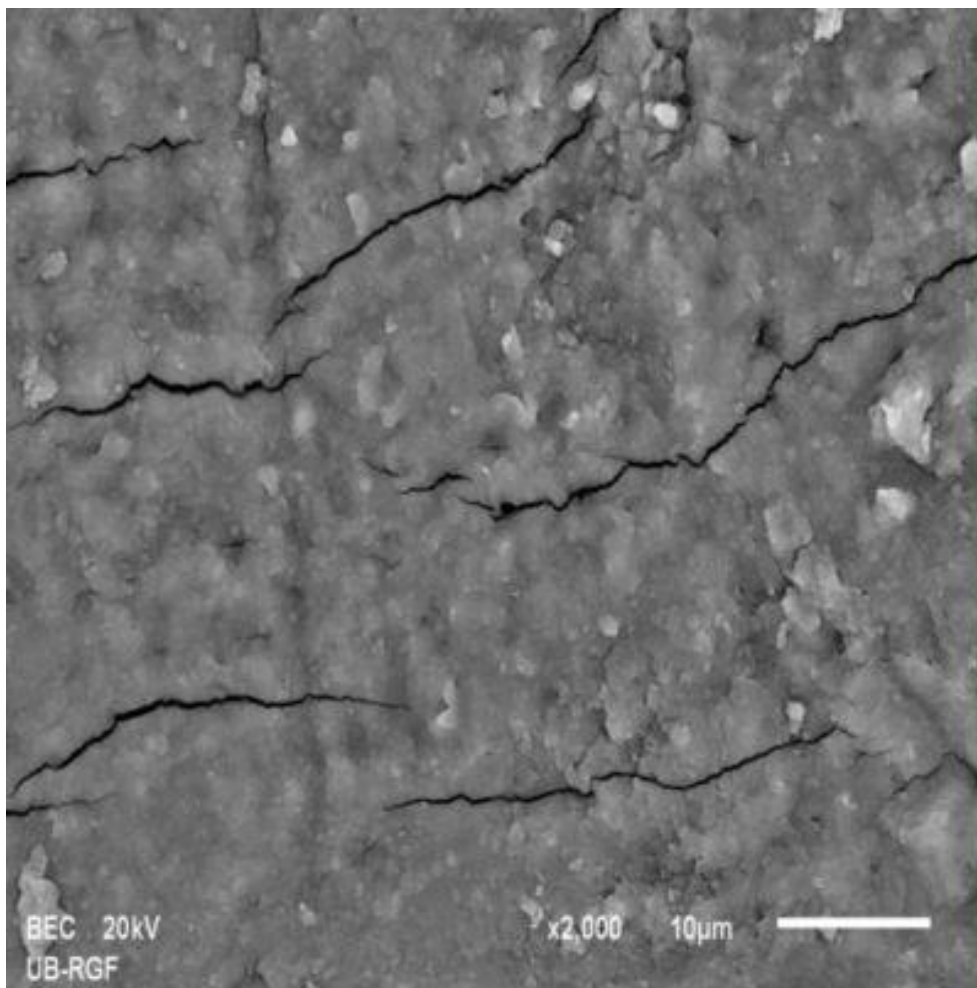
Највеће вредности размазног слоја забележене су у апикалној (4,70), затим у средњој (4,30) и коронарној (4,00) трећини. Статистичком анализом добијених података није утврђена статистички значајна разлика у количини размазног слоја између испитиваних трећина у контролној групи ($p>0,05$).



Слика 24. Репрезентативна *SEM* микрографија површине коренског дентина у апикалној трећини у контролној групи



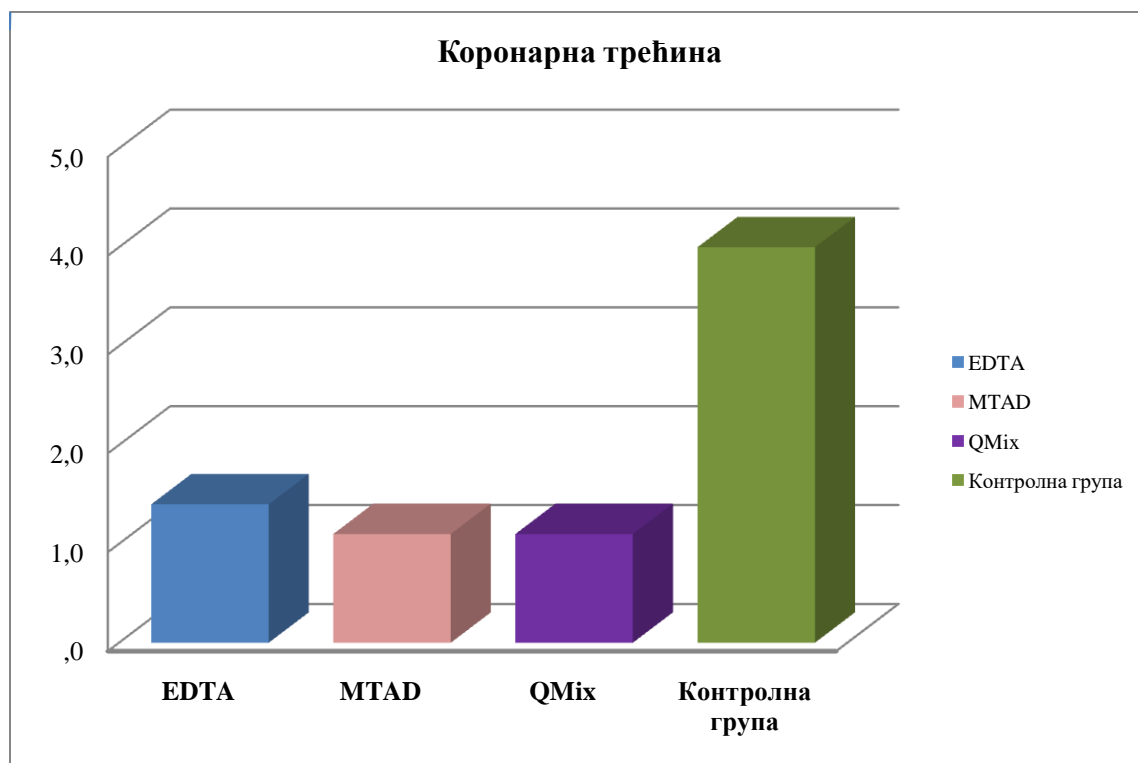
Слика 25. Репрезентативна *SEM* микрографија површине коренског дентина у средњој трећини у контролној групи



Слика 26. Репрезентативна *SEM* микрографија површине коренског дентина у коронарној трећини у контролној групи

4.1.5. SEM анализа ефикасности уклањања размазног слоја у коронарној трећини

Просечне вредности количине размазног слоја присутне у коронарној трећини канала корена у у групама у којима су као финални ириганси примењени *EDTA*, *MTAD* или *QMix*, као и контролној групи, приказане су на графикону 5.



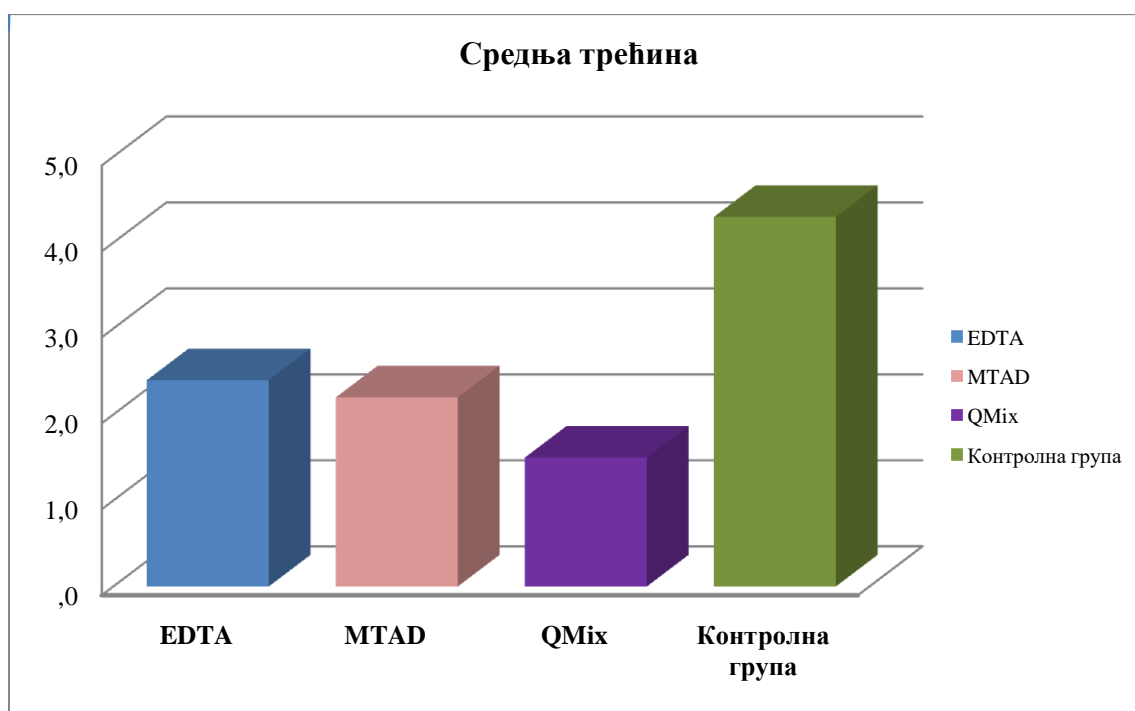
Графикон 5. Вредност размазног слоја у коронарној трећини

Финална иригација применом *EDTA*, *MTAD* или *QMix* раствора, узроковала је значајно ефикасније уклањање размазног слоја у коронарној трећини, у односу на контролну групу ($p < 0,05$). Иако ни један од примењених финалних ириганаса (*EDTA*, *MTAD* и *QMix*) није у

потпуности уклонио размазни слој у коронарној трећини, није утврђена статистички значајна разлика у њиховој ефикасности у коронарној трећини канала корена ($p>0,05$).

4.1.6. SEM анализа ефикасности уклањања размазног слоја у средњој трећини

Просечне вредности количине размазног слоја присутне у средњој трећини канала корена у *EDTA*, *MTAD*, *QMix* и контролној групи приказане су на графикону 6.



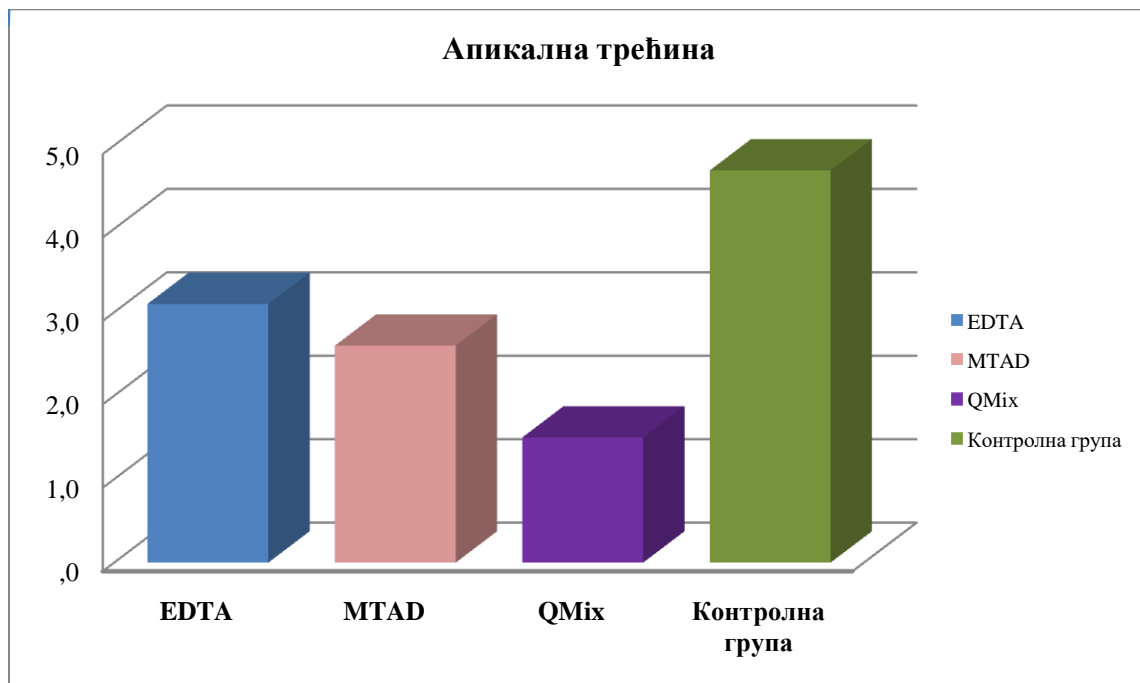
Графикон 6. Вредност размазног слоја у средњој трећини

Анализирајући ефикасност уклањања размазног слоја у средњој трећини канала корена, уочава се да је количина размазног слоја након финалне иригације у *EDTA*, *MTAD* и *QMix*

групи била значајно мања у односу на контролну групу ($p < 0,05$). И ако је размазни слој у средњој трећини најбоље уклоњен применом *QMix*-а та разлика није досегла статистичку значајност у односу на *EDTA* и *MTAD* групу ($p > 0,05$). Подједнака ефикасност у уклањању размазног слоја забележена је и између *EDTA* и *MTAD* групе у средњој трећини ($p > 0,05$).

4.1.7. SEM анализа ефикасности уклањања размазног слоја у апикалној трећини

Просечне вредности количине размазног слоја присутне у апикалној трећини канала корена у *EDTA*, *MTAD*, *QMix* и контролној групи приказане су на графикону 7.



Графикон 7. Вредност размазног слоја у апикалној трећини

Највећа количина размазног слоја у апикалној трећини канала корена забележена је у *EDTA* и контролној групи ($p>0,05$).

Ефикасност уклањања размазног слоја у апикалној трећини била је приближно иста након финалне иригације у *QMix* и *MTAD* групи ($p>0,05$), а значајно већа у поређењу са *EDTA* и контролном групом ($p<0,05$).

4.2. EDS АНАЛИЗА МИНЕРАЛНОГ САСТАВА ДЕНТИНА

4.2.1. Средње вредности \pm SD Ca корнског дентина у апикалној и коронарној трећини након различитих протокола финалне иригације

Средње вредности Ca присутне у апикалној и коронарној трећини канала корена након финалне иригације у EDTA, MTAD, QMix, контролној и неинструментованој групи приказане су у табели 1.

Табела 1. Средње вредности Ca у EDTA, MTAD, QMix, контролној и неинструментованој групи

	Апикална трећина	Коронарна трећина
	(mean \pm SD)	(mean \pm SD)
EDTA група	21,03 \pm 3,05 ^{АБа}	22,15 \pm 2,53 ^{АБа}
MTAD група	11,75 \pm 6,12 ^{Аа}	14,75 \pm 5,82 ^{Аа}
QMix група	19,73 \pm 5,65 ^{АБа}	20,84 \pm 3,65 ^{АБа}
Контролна група	26,49 \pm 5,35 ^{Ба}	25,82 \pm 5,35 ^{Ба}
Неинструментирана група	27,00 \pm 2,45 ^{Ба}	26,00 \pm 5,35 ^{Ба}

* Средње вредности са истим великим словима (колоне) или малим словима (редови) нису статистички значајне ($p > 0,05$).

EDS анализом минералног садржаја у MTAD групи је показано значајно смањење количине Ca у поређењу са контролном и неинструментираном групом ($p < 0,05$) у обе

испитиване трећине. И ако је финална иригација *MTAD*-ом довела до највећег губитка овог минерала та разлика није била статистички значајна у односу на *EDTA* и *QMix* групу ($p>0,05$). Након финалне иригације у *QMix* групи садржај *Ca* није се битно мењао у поређењу са *EDTA*, контролном и неинструментираном групом у обе испитиване трећине ($p>0,05$). Такође, није уочена значајна разлика у количини *Ca* у апикалној и коронарној трећини између *EDTA* и контролне, неинструментираних група ($p>0,05$), као ни након финалне иригације у контролној и неинструментираној групи ($p>0,05$).

Промене у садржају *Ca* између коронарне и апикалне трећине канала корена нису се битно разликовале ни у једној експерименталној групи ($p>0,05$).

4.2.2. Средње вредности \pm SD *P* коренског дентина у апикалној и коронарној трећини након различитих протокола финалне иригације

Средње вредности *P* присутне у апикалној и коронарној трећини канала корена након финалне иригације у *EDTA*, *MTAD*, *QMix*, контролној и неинструментираној групи приказане су у табели 2.

Табела 2. Средње вредности P у *EDTA*, *MTAD*, *QMix*, контролној и неинструментираној групи

	Апикална трећина	Коронарна трећина
	(mean±SD)	(mean±SD)
EDTA група	11,01±1,36 ^{АЦа}	11,43±0,96 ^{АЦа}
MTAD група	6,12±3,35 ^{Аа}	7,68±3,34 ^{Аа}
QMix група	10,55±2,88 ^{АЦа}	11,15±2,17 ^{АЦа}
Контролна група	13,72±3,01 ^{БЦа}	13,60±3,23 ^{БЦа}
Неинструментирана група	18,60±4,67 ^{Ба}	19,60±4,15 ^{Ба}

* Средње вредности са истим великим словима (колоне) или малим словима (редови) нису статистички значајне ($p>0,05$).

Анализом садржаја P уочено је значајно смањење овог минерала након финалне иригације у *MTAD*, *QMix* и *EDTA* групи у односу на неинструментирану групу у обе испитиване трећине ($p<0,05$).

Финална иригација *MTAD* довела је до значајног смањења количине P у поређењу са контролном групом ($p<0,05$), при чему су забележене приближно једнаке вредности P као и у *QMix* и *EDTA* групи у обе испитиване трећине ($p>0,05$).

Садржај P био је приближно исти у апикалној и коронарној трећини након финалне иригације у *QMix*, *EDTA* и контролној групи ($p>0,05$). Такође, финална иригација у контролној групи није довела до промена у садржају P у односу на неинструментирану групу у обе испитиване трећине ($p>0,05$).

Поређењем резултата у промени садржаја *P* између апикалне и коронарне трећине канала, нису уочене статистички значајне разлике у количини овог минерала ни у једној експерименталној групи ($p>0,05$).

4.2.3. Однос *Ca/P* коренског дентина у апикалној и коронарној трећини канала након различитих протокола финалне иригације

Однос *Ca/P* у апикалној и коронарној трећини канала корена након финалне иригације у *EDTA*, *MTAD*, *QMix*, контролној и неинструментираној групи приказане су у табели 3.

Табела 3. Однос *Ca/P* у *EDTA*, *MTAD*, *QMix*, контролној и неинструментираној групи

	Апикална трећина	Коронарна трећина
	(mean±SD)	(mean±SD)
EDTA група	1,91±0,12 ^{Aa}	1,94±0,16 ^{Aa}
MTAD група	1,95±0,15 ^{Aa}	1,95±0,15 ^{Aa}
QMix група	1,86±0,09 ^{ЦAa}	1,87±0,08 ^{Aa}
Контролна група	1,94±0,08 ^{Aa}	1,91±0,18 ^{Aa}
Неинструментирана група	1,56±0,53 ^{Цa}	1,37±0,35 ^{Ба}

* Средње вредности са истим великим словима (колоне) или малим словима (редови) нису статистички значајне ($p>0,05$).

Финална иригација у *MTAD*, *QMix*, *EDTA* и контролној групи имала је за исход промену односа *Ca/P* у поређењу са неинструментираном групом у коронарној трећини ($p < 0,05$). Са друге стране, у апикалној трећини забележене су приближно једнаке промене у односу *Ca/P* и у *QMix* и у неинструментираној групи ($p > 0,05$).

Однос *Ca/P* био је приближно исти између *QMix* и *EDTA*, *MTAD* и контролне групе ($p > 0,05$). Финална иригација са *EDTA* није утицала на измену овог односа у поређењу са *MTAD* и контролном групом у обе испитиване трећине ($p > 0,05$). Приближно једнаке вредности *Ca/P* су забележене и у *MTAD* и контролној групи у апикалној и коронарној трећини ($p > 0,05$).

Однос *Ca/P* између апикалне и коронарне трећине, није се разликовао ни у једној експерименталној групи ($p > 0,05$).

4.2.4. Средње вредности \pm SD Mg коренског дентина у апикалној и коронарној трећини након различитих протокола финалне иригације

Средње вредности *Mg* присутне у апикалној и коронарној трећини канала корена након финалне иригације у *EDTA*, *MTAD*, *QMix*, контролној и неинструментираној групи приказане су у табели 4.

Табела 4. Средње вредности *Mg* у *EDTA*, *MTAD*, *QMix*, контролној и неинструментираној групи

	Апикална трећина	Коронарна трећина
	(mean±SD)	(mean±SD)
EDTA група	0,67±0,17 ^{АБа}	0,80±0,18 ^{АЦа}
MTAD група	0,41±0,27 ^{Аа}	0,56±0,33 ^{Аа}
QMix група	0,61±0,17 ^{АБа}	0,77±0,23 ^{АЦб}
Контролна група	0,67±0,31 ^{АБа}	0,95±0,19 ^{БЦа}
Неинструментирана група	0,82±0,18 ^{Ба}	1,02±0,23 ^{БЦа}

* Средње вредности са истим великим словима (колоне) или малим словима (редови) нису статистички значајне ($p>0,05$).

Значајно смањење количине *Mg*, забележено је након иригације у *MTAD* групи у односу на неинструментирану групу, у обе испитиване трећине ($p<0,05$). Значајно смањење *Mg*, забележено је и након иригације у *MTAD* групи, у поређењу са контролном групом у коронарној трећини канала корена ($p<0,05$).

Приближно једнаке вредности *Mg* се уочавају након финалне иригације између *MTAD* и *QMix* и *EDTA* групе у коронарној трећини, као и контролне групе у апикалној трећини канала корена ($p>0,05$).

QMix група имала је приближно једнаке вредности овог минерала као и *EDTA*, контролна и неинструментирана група у обе испитиване трећине ($p>0,05$). Финална иригација *EDTA* раствором није довела до измена у садржају *Mg* у апикалној и коронарној трећини, у поређењу са контролном и неинструментираном групом ($p>0,05$). Такође, није утврђена разлика у садржају овог минерала између контролне и неинструментиране групе у обе испитиване трећине ($p>0,05$).

Анализирајући разлике у садржају *Mg* између трећина, утврђено је да је само у *QMix* групи забележена мања количина *Mg* у апикалној у поређењу са коронарном трећином ($p < 0,05$), при чему је садржај овог минерала био приближно исти у *MTAD*, *EDTA*, контролној и неинструментираној групи ($p > 0,05$).

4.2.5. Средње вредности $\pm SD$ *S* коренског дентина у апикалној и коронарној трећини након различитих протокола финалне иригације

Средње вредности *S* присутне у апикалној и коронарној трећини канала корена након финалне иригације у *EDTA*, *MTAD*, *QMix*, контролној и неинструментираној групи приказане су у табели 5.

Табела 5. Средње вредности *S* у *EDTA*, *MTAD*, *QMix*, контролној и неинструментираној групи

	Апикална трећина (mean \pm SD)	Коронарна трећина (mean \pm SD)
EDTA група	0,00 \pm 0,00 ^{Aa}	0,00 \pm 0,00 ^{Aa}
MTAD група	0,16 \pm 0,20 ^{Ba}	0,09 \pm 0,16 ^{Aa}
QMix група	0,00 \pm 0,00 ^{Aa}	0,11 \pm 0,23 ^{Aa}
Контролна група	0,00 \pm 0,00 ^{Aa}	0,03 \pm 0,12 ^{Aa}
Неинструментирана група	0,00 \pm 0,00 ^{Aa}	0,00 \pm 0,00 ^{Aa}

* Средње вредности са истим великим словима (колоне) или малим словима (редови) нису статистички значајне ($p > 0,05$).

У апикалној трећини значајно већа количина S уочена је у *MTAD* групи у поређењу са *EDTA*, *QMix*, контролном и неинструментираном групом ($p < 0,05$). Није уочена статистички значајна разлика у количини S након финалне иригације између *QMix* и *EDTA*, контролне и неинструментиране групе, као и између *EDTA*, контролне и неинструментиране групе у апикалној трећини канала корена ($p > 0,05$). У коронарној трећини садржај S није разликовао између испитиваних група ($p > 0,05$).

Количина S у анализираним узорцима није се разликовала између апикалне и коронарне трећине ни у једној испитиваној групи ($p > 0,05$).

4.2.6. Средње вредности $\pm SD$ K коренског дентина у апикалној и коронарној трећини након различитих протокола финалне иригације

Енергетско дисперзивном спектроскопијом није измерено присуство K у узорцима ни једне експерименталне групе.

4.2.7. Средње вредности $\pm SD$ Na коренског дентина у апикалној и коронарној трећини након различитих протокола финалне иригације

Средње вредности Na присутне у апикалној и коронарној трећини канала корена након финалне иригације у *EDTA*, *MTAD*, *QMix*, контролној и неинструментираној групи приказане су у табели 6.

Табела 6. Средње вредности *Na* у *EDTA*, *MTAD*, *QMix*, контролној и неинструментираној групи

	Апикална трећина	Коронарна трећина
	(mean±SD)	(mean±SD)
EDTA група	1.13±0.11 ^{Ба}	1.07±0.37 ^{Ба}
MTAD група	0.60±0.41 ^{БЦа}	0.76±0.44 ^{БЦа}
QMix група	0.80±0.31 ^{Ба}	1.14±0.48 ^{Ба}
Контролна група	1.20±0.37 ^{Ба}	1.34±0.26 ^{Ба}
Неинструментирана група	0.00±0.00 ^{АЦа}	0.00±0.00 ^{АЦа}

* Средње вредности са истим великим словима (колоне) или малим словима (редови) нису статистички значајне ($p > 0,05$).

Након финалне иригације у *QMix*, *EDTA* и контролној групи дошло је до значајног повећања количине *Na* у поређењу са неинструментираном групом у обе испитиване трећине ($p < 0,05$). Узорци из *MTAD* групе садржали су једнаку количину *Na* као и узорци из *QMix*, *EDTA*, контролне и неинструментиране групе ($p > 0,05$). Финална иригација *QMix*-ом у апикалној и коронарној трећини довела је до приближно истих промена у нивоу *Na* у поређењу са *EDTA* и контролном групом, као и финална иригација са *EDTA* у поређењу са контролном групом ($p > 0,05$).

Садржај *Na* није се значајно разликовао између апикалне и коронарне трећине ни у једној испитиваној групи ($p > 0,05$).

4.2.8. Средње вредности \pm SD O коренског дентина у апикалној и коронарној трећини након различитих протокола финалне иригације

Средње вредности O присутне у апикалној и коронарној трећини канала корена након финалне иригације у EDTA, MTAD, QMix, контролној и неинструментираној групи приказане су у табели 7.

Табела 7. Средње вредности O у EDTA, MTAD, QMix, контролној и неинструментираној групи

	Апикална трећина (mean \pm SD)	Коронарна трећина (mean \pm SD)
EDTA група	44,29 \pm 2,50 ^{Aa}	42,97 \pm 2,34 ^{ABб}
MTAD група	40,63 \pm 12,33 ^{Aa}	40,03 \pm 9,55 ^{Aa}
QMix група	42,30 \pm 8,45 ^{Aa}	43,78 \pm 6,06 ^{ABa}
Контролна група	45,50 \pm 3,32 ^{Aa}	46,73 \pm 3,38 ^{Ба}
Неинструментирана група	45,30 \pm 3,37 ^{Aa}	46,50 \pm 3,63 ^{Ба}

*Средње вредности са истим великим словима (колоне) или Малим словима (редови) нису статистички значајне ($p>0,05$).

Приближно иста количина O у апикалној трећини забележена је у свим испитиваним групама ($p>0,05$). У коронарној трећини, након финалне иригације у MTAD групи дошло је до значајног смањења O у поређењу са контролном и неинструментираним групом ($p<0,05$).

Ниво O у коронарној трећини био је исти у MTAD, EDTA и QMix групи ($p>0,05$). Након финалне иригације узорци из EDTA групе у коронарној трећини садржали су исту

количину *O* као и узорци из *QMix*, контролне и неинструментиране групе ($p>0,05$).
Садржај *O* у коронарној трећини није се разликовао између *QMix*, контролне и неинструментиране групе, као и између контролне и неинструментиране групе ($p>0,05$).

Значајна разлика у нивоу *O* између апикалне и коронарне трећине забележена је само у *EDTA* групи, где је уочена значајно мања вредност *O* у коронарној трећини ($p<0,05$).

4.2.9. Средње вредности \pm *SD* *C* коренског дентина у апикалној и коронарној трећини након различитих протокола финалне иригације

Средње вредности *C* присутне у апикалној и коронарној трећини канала корена након финалне иригације у *EDTA*, *MTAD*, *QMix*, контролној и неинструментираној групи приказане су у табели 8.

Табела 8. Средње вредности *C* у *EDTA*, *MTAD*, *QMix*, контролној и неинструментираној групи

	Апикална трећина	Коронарна трећина
	(mean \pm SD)	(mean \pm SD)
EDTA група	21,13 \pm 2,72 ^{Ба}	20,90 \pm 2,38 ^{Ба}
MTAD група	44,74 \pm 4,51 ^{Аа}	42,17 \pm 5,28 ^{Аа}
QMix група	27,89 \pm 5,98 ^{АБа}	27,89 \pm 3,79 ^{АБа}
Контролна група	22,21 \pm 9,25 ^{Ба}	21,11 \pm 8,48 ^{Ба}
Неинструментирана група	23,20 \pm 8,23 ^{Ба}	23,70 \pm 8,19 ^{Ба}

* Средње вредности са истим великим словима (колоне) или малим словима (редови) нису статистички значајне ($p>0,05$).

Значајно више вредности C забележене су након финалне иригације у *MTAD* групи, поређено са *EDTA*, контролном и неинструментираном групом у обе испитиване трећине ($p < 0,05$). Садржај C био је исти у *MTAD* и *QMix* групи ($p > 0,05$).

Након финалне иригације у *EDTA* групи, количина C није се разликовала у односу на *QMix*, контролну и неинструментирану групу у обе испитиване трећине ($p > 0,05$). Финална иригација *QMix*-ом у апикалној и коронарној трећини довела је до приближно истих промена у количини C у поређењу са контролном и неинструментираном групом, као и финална иригација у контролној групи, поређено са неинструментираном групом ($p > 0,05$).

Приближно исте вредности C су измерене у апикалној и коронарној трећини у свим испитиваним групама ($p > 0,05$).

5. ДИСКУСИЈА

5. ДИСКУСИЈА

Експериментални део докторске дисертације спроведен је у *in vitro* условима на материјалу биолошког порекла, у складу са методологијом коришћеном у ранијим истраживањима за процену ефикасности каналних ириганаса у уклањању размазног слоја и њиховом деловању на минерални састав дентина (79, 93, 99). Применом овог методолошког приступа, могуће је контролисати услове у којима се експеримент изводи, могуће га је извести на већем броју узорака у релативно кратком временском периоду и у колико је неопходно понављање експеримента, могуће га је спровести под идентичним условима. Недостатак овог методолошког приступа састоји се у чињеници да се инструментација и иригација не изводе у физиолошким условима какви владају у усној дупљи, што би могло утицати на веродостојност добијених резултата (109, 110). Како би се донекле симулирали клинички услови, односно услови какви владају у усној дупљи, у студији је коришћен „затворени модел“ препарације и иригације канала.

С обзиром да морфологија каналног система, као и облик канала на попречном пресеку, могу значајно да утичу на ендодонтску терапију (111), у студију су укључени једнокорени зуби са правим каналима, који су препарисани до величине #40 (*F4*) апикалне препарације. Такође, дужина свих коренова је стандардизована на 17 *mm*.

Ендодонтска обрада спроведена је под строгом контролом ока од стране једног оператера, како би сви канали били на исти начин обрађени. Механичка обрада је изведена *ProTaper* инструментима, који на попречном пресеку имају облик троугла са конвексним странама и активним сечивним ивицама и одговарајућом мултиконишношћу. Турпије које се користе за завршну обраду (*F*) поседују већу коничност у апикалном делу.

Током препарације за редослед и број коришћених инструмената поштована су упутства произвођача. Показано је да се са коришћењем ротационих инструмената чији је конус већи од 4% ефикасније обрађује коренски канал у односу на ручне технике препарације (112), као и да инструментација канала корена већим промером машинских инструмената резултира знатно ефикаснијим чишћењем апикалних 3 *mm* канала у односу на ручне технике (113).

За процену ефикасности уклањања размазног слоја након примене различитих протокола иригације у овој студији коришћен је скенирајући електронски микроскоп, односно, примењена је методологија скенирајуће електронске микроскопије (*SEM*). Примена *SEM* омогућава анализу површине дентина на фотомикрографијама високе резолуције, где се могу уочити и разликовати инструментисане и неинструментисане површине, уочити отворени дентински тубули, присуство дебриса и размазног слоја, као и ерозивне и друге микроструктурне промене у дентину. Због високе прецизности анализа *SEM*-ом представља златни стандард за процену ефикасности чишћења зидова канала корена (114).

Иако *SEM* поседује могућност посматрања под великим распоном увељичања, у литератури још увек није усаглашено на ком увељичању треба посматрати и оцењивати резултате ефикасности уклањања размазног слоја. Уколико се површина дентина посматра на мањем увељичању, могуће је анализирати већу површину и њену топографију, где се могу приказати истовремено подручја са очишћеном и неочишћеном површином дентина. Већа увељичања омогућују увид у микроструктуру и грађу дентина, као и прецизније процене остатака дентинског дебриса и размазног слоја и идентификацију отворених дентинских тубула (115). Међутим, уколико се посматра под већим

увеличањем, одабрана регија се може протумачити као репрезентативна слика за целокупну површину дентина, а постоји могућност и пристрасности посматрача при одабиру регије за анализу и тумачење добијених резултата (114).

Студије у којима је процењивана ефикасност уклањања размазног слоја користиле су различита увеличања и различито дефинисане скале за анализу добијених резултата (79, 93, 116). У нашој студији, процена ефикасности уклањања размазног слоја оцењивана је помоћу нумеричке евалуационе скале од 5 степена, која је коришћена и у већини других истраживања, при увеличању од 2000x (93, 117). У циљу смањења субјективног утицаја посматрача при одабиру регије за посматрање, на спољашњим деловима зуба урезани су плитки хоризонтални жлебови на растојању 5, 10 и 15 *mm* од врха корена зуба. За посматрање је биран увек исти средишњи део канала, на једнакој удаљености од латералних зидова канала. Процена ефикасности уклањања размазног слоја оцењивана је на кодираним фотографијама од стране два истраживача.

За процену минералног састава дентина осим четири експерименталне групе у којима су коришћени различити финални ириганси, додата је још једна експериментална група у којој узорци нису инструментирани, како би се спречило стварање размазног слоја на зидовима канала корена и на тај начин омогућило мерење садржаја минерала на интактном дентину (99).

Садржај минерала у дентину канала корена мерен је у нашој студији применом енергетско-дисперзивне спектроскопије (*EDS*). У истраживањима других аутора примењиване су најразличитије методе за процену минералног састава дентина: *ICP-AES* метода (100, 118), атомска апсорпциона спектрометрија (119), Раман спектрометрија (120),

пламена фотометрија (70) или је минерални садржај процењиван индиректно мерењем микротврдоће дентина (121).

Енергетско-дисперзивна спектроскопија је микроаналитичка техника за квантитативну процену количине минерала у зубном ткиву. Овај метод омогућује брзу и недеструктивну анализу узорака са просторном резолуцијом у микрометарском режиму. Један од основних недостатака традиционалних анализа, као што је хемијска анализа, укључује уништавање чврстог материјала, како би се анализирао њихов минерални садржај и често су потребне велике количине материјала за анализирање елемената појединачно. Метода *EDS* може се применити на малим узорцима, без њиховог предходног растварања, при чему се одмах може мерити количина елемената у чврстом материјалу (122). У предходним истраживањима других аутора, за анализу минералног састава дентина помоћу *EDS*, коришћени су полирани дентински дискови или половине коренова који су посматрани у различитим тачкама и на различитим растојањима (9, 27, 123). За процену минералног састава дентина у нашој студији коришћене су половине коренова, које су анализирани у апикалној и коронарној трћини. Свака трећина била је означена у центру и на два суседна подручја на истом растојању. Један од недостатака енергетско дисперзивне спектроскопије је могуће сушење узорака и структурне промене у току анализе, јер *EDS* детектор ради у условима ниског вакуума (124, 125).

С обзиром да у ендодонтској терапији не постоји јасан став о томе који од тренутно расположивих финалних ириганаса најбоље уклања размазни слој, у нашем истраживању поредили смо ефикасност уклањања размазног слоја на зидовима канала корена након иницијалне иригације *NaOCl* и финалне иригације најчешће коришћеном *EDTA*, као и применом и новијих ириганаса *MTAD* и *QMix*.

У свакодневној клиничкој пракси за иригацију канала корена најчешће се користи комбинација *NaOCl* и *EDTA*, али се препоручује и додатна иригација са *CHX* због његовог антимикробног дејства (126, 127). Међутим, у истраживањима других аутора показано је да примена *EDTA* као финалног ириганса не може у потпуности уклонити размазни слој, нарочито у апикалној трећини канала корена. Осим тога, може довести до изражених ерозивних промена дентина (77, 128, 129). Такође, као резултат међусобне интеракције *EDTA* и *CHX*, може доћи до растварања *CHX* при чему се формирају соли и изостаје његов антимикробни ефекат (130). На тржишту су се појавили новији ириганси *QMix* и *MTAD* који представљају мешавину више активних компоненти са циљем да поједноставе поступак иригације, уклоне размазни слој и испоље антимикробно дејство.

У новијим литературним подацима постоје опречни резултати о дејству нових ириганаса на размазни слој. Док поједини истраживачи истичу супериорнији ефекат у уклањању размазног слоја новим иригансима у односу на најчешће коришћену *EDTA* (79, 93), други указују да је њихова ефикасност мања или подједнака као и *EDTA* (78, 131).

Резултати добијени у нашем истраживању показали су да је након финалне иригације са *EDTA*, *MTAD* и *QMix* подједнако ефикасно уклоњен размазни слој у коронарној и средњој трећини канала. У апикалној трећини *QMix* је ефикасније уклонио размазни слој од *EDTA*, слично као и *MTAD*.

Добијени резултати су у сагласности са резултатима најновијих студија, попут студије *Ballal* и сарадника (9) и *Vemuri* и сарадника (132). Резултати ових истраживања показују да се финалном иригацијом *QMix* ефикасније уклања размазни слој у апикалној трећини канала корена, у поређењу са најчешће коришћеном *EDTA*. Такође, резултати

студије *Mozayeni* и сарадника (133) истичу супериорнији ефекат *MTAD* у уклањању размазног слоја у апикалној трећини у поређењу са *EDTA*. Слабији ефекат чишћења *EDTA* у апикалној трећини уочен је и у другим истраживањима (84, 128, 129).

С друге стране поједини аутори нису нашли разлику у ефикасности уклањања размазног слоја између *QMix* и *EDTA* (95, 131) или су уочили слабији ефекат *MTAD* на размазни слој у односу на *EDTA* (78).

Постоји неколико претпоставки зашто у апикалној трећини *QMix* ефикасније уклања размазни слој од *EDTA*, слично као и *MTAD*, како сугеришу резултати добијени у нашем истраживању. Пре свега, *QMix* поред *EDTA* садржи *CHX* и детерцент, па је ефикасније уклањање размазног слоја вероватно последица синергистичког ефекта компоненти присутних у *QMix*. Иако је у неким истраживањима показано да *CHX* можда може да uklони остатке ткива са површине дентина (134), присуство детерцента вероватно доприноси већој ефикасности *QMix*. Наиме, детерцент смањује површински напон раствора и олакшава контакт ириганса са зидовима канала, што омогућава боље уклањање размазног слоја. Из истог разлога, *EDTA*, која има већи површински напон у поређењу са другим испитиваним хелатним средствима (135, 136), има најслабији ефекат на размазни слој, не само у апикалном делу већ и у другим коренским трећинама.

Ефикасније уклањање размазног слоја *MTAD* у поређењу са *EDTA*, може се објаснити његовим ниским површинским напоном ($34,5 \text{ mJ/m}^2$). Низак површински напон може да осигура потпунији контакт са дентином канала корена и тиме повећа способност дубљег продирања ириганса у дентинске каналиће и ефикасније уклањање размазног слоја (85).

Слабији ефекат чишћења *EDTA* у апикалној трећини корена, такође се може приписати чињеници да се хелатно деловање неутралног *EDTA* раствора на заснива само на уклањању калцијумових јона из неорганског дентина, већ и на елиминацији калцијума из органских компоненти дентина, попут, у води растворљивих неколагених протеина. Пошто су неколагени протеини присутни у нижим концентracијама у апикалном региону, степен декалцификације узрокован *EDTA* је смањен (137). На ефикасност *EDTA* према литературним подацима, може имати утицај и тубуларна склероза дентина корена у апикалном делу (138).

Испирање канала шприцем и иглом представља стандардну технику иригације. Међутим, предходни резултати сугеришу да се не може обезбедити комплетно чишћење канала када се користи овај метод иригације (9). То поткрепљују и резултати нашег истраживања јер ни једно од хелатних средстава није у потпуности уклонило размазни слој. Међутим, осим *EDTA* у апикалној трећини, испитивана хелатна средства су била значајно супериорнија од контролне групе, која није показала никакав утицај на размазни слој.

Ефикасност хелатних средстава у уклањању размазног слоја се смањује од коронарне према апикалној трећини, и ако су коренски канали у свим групама обликовани до величине 0,40 (коничност 6%) како би се омогућило адекватно чишћење и пенетрација иригационог раствора у апикалну порцију канала. Добијени резултати су у сагласности са резултатима предходних истраживања других аутора који показују да су иригациони раствори најмање ефикасни у апикалној трећини (79, 88).

Стварање мехурића ваздуха због иригације у затвореном каналном систему и смањење пречника канала у апикалној трећини, смањују ефикасност иригације. Међутим, за разлику од *EDTA* и *MTAD*, након третмана *QMix*, није забележена значајна разлика у скору размазног слоја између коренских трећина након третмана. Овај резултат указује на то да је пенетрација *QMix* у апикалну трећину коренског канала била једнако добра као у другим трећинама.

Иако постоје одређени наводи да размазни слој може утицати на мерење минералног састава дентина, у овој студији *EDS* анализа је спроведена након обраде канала и иригације *NaOCl*. Оправданост за овакав дизајн јесте што реалнија и прецизнија симулација клиничких услова. Сличан дизајн истраживања за испитивање утицаја различитих протокола иригације на минерални састав дентина је коришћен и у студији *Wang*-а и сарадника (99).

Наше истраживање је показало да *MTAD* значајно смањује вредности *Ca*, *P*, *O* и *Mg*, а повећава вредности *C*, *S* као и *Ca/P* коренског дентина у поређењу са необрађиваном групом. Ове промене минералног садржаја коренског дентина могу се углавном приписати ниском *pH* доксициклина и лимунске киселине у саставу *MTAD*, који представљају хелатор калцијума.

Иако је *MTAD* показао најинтензивнији утицај на минерални састав коренског дентина, у поређењу са *QMix* и *EDTA*, те разлике нису достигле статистичку значајност у нашој студији, осим за вредност *C* и *S* у односу на *EDTA* групу.

Утицај иригације *NaOCl* и финалне иригације *MTAD* на вредности *Ca* или *P* је поређен са *EDTA* и у неколико предходних студија других аутора које су дале различите

результате. Док у неким студијама, 17% *EDTA* са додатком детерџента уклања више *Ca* од *MTAD*-а (102), у другим, *MTAD* уклања значајно више *P* од 17% *EDTA* (103).

Различити резултати добијени у нашем истраживању у односу на претходно наведене, можда би могли да се припишу разликама у дизајну студија и методама квантификације минералних материја. Разлог значајног повећања вредности *C* након испирања *MTAD*-ом у нашој студији није познат.

Може се предпоставити да *MTAD* повећава количину органског материјала на површини дентина више од *EDTA*. Наиме, примећено је да је кинетика деминерализације *MTAD* знатно бржа од оне уочене за 17% *EDTA* (123). *Tau* и сарадници (86) су утврдили да је деминерализација интактног интрадикуларног дентина и излагање колагених влакана после деловања *MTAD* израженије (5-6 *mm*) него после 17% *EDTA* (1-2 *mm*), када се ови раствори користе за финалну иригацију у трајању од 2 минута након 1,3% *NaOCl*. Сличан резултат показује и студија *Ballal*-а и сарадника, у којој је показано да *QMix* и 17% *EDTA* не мењају садржај *Mg* (9). Насупрот томе и насупрот резултатима наше студије, *Dogan* и *Calt* (27) су показали да комбинација *NaOCl* и хелатног средства (*Rc-prep* и *EDTA*), утиче на повећање овог минерала, при чему самостална примена сваког од њих не мења његов однос.

За разлику од резултата наше студије где је уочено да финална иригација *MTAD* доводи до смањења *Mg*, *Sobankara* и сарадници (100) нису уочили промене у садржају овог минерала након финалне иригације 10% лимунском киселином. С обзиром на брзину деминерализације *MTAD* (123) и чињеницу да у току деминерализације прво долази до

губитка овог минерала, чак пре *Ca* и *P* донекле се може објаснити разлог смањења *Mg* у нашој студији.

Финална иригација *MTAD* узроковала је значајно повећање *S* у односу на остале групе, док се његов садржај није мењао након иригације у осталим испитиваним групама. Слични резултати су објављени у студији *Ari* и сарадника (118) који су показали да иригација *CHX*, *EDTA* и *NaOCl* не мења садржај овог минерала. Супротно резултатима нашег истраживања *Cobankara* и сарадници (100) користећи *ICP-AES* технику нашли су да *EDTA* и лимунска киселина смањују ниво *S*, док је у истраживању *Ballal* и сарадника (98) утврђено да *EDTA* доводи до његовог повећања. Различити резултати добијени у поменутих и нашем истраживању, могу се приписати различитим техникама за квантификацију минералног састава дентина, као и начину препарације узорака за анализу. Узимајући све у обзир може се рећи да су промене у дентину изазване *MTAD*-ом, у поређењу са друга два хелатна средства, не толико значајне и прихватљиве за клиничку употребу.

У нашој студији иригација *EDTA* и *QMix* је проузроковала незнатну модификацију неорганске компоненте коренског дентина, смањујући вредност *P*, без утицаја на органску структуру у поређењу са необрађеним узорцима. У недавно спроведеном истраживању *Ramirez-Bommer*-а и сарадника, показано је да потапање партикула дентина у раствор 2,5% *NaOCl*, а потом у 17% *EDTA* доводи до значајног смањења нивоа *P* у узорцима (139). Такође, показано је да иригација канала 5% *NaOCl* уз финалну иригацију 17% *EDTA* узрокује само незнатне промене у вредностима *C*, *O*, *Ca* и *P* у циркумпулпалном дентину (99). Могло би се очекивати да ће *QMix* значајније да промени минерални састав дентина од *EDTA* због тога што компоненте *QMix*-а, детерцент и *CHX* утичу на микротврдоћу

дентина, индиректни показатељ минералних промена у коренском дентину (140, 141) и са друге стране ефикаснијег уклањања размазног слоја.

Насупрот томе, резултати нашег истраживања показују да *QMix* изазива промене у дентину исте као *EDTA*, поређено са необрађеним узорцима. Ово се може објаснити резултатима предходних истраживања других аутора који показују да додавање детерџента *EDTA* не повећава уклањање јона *Ca* из дентина у поређењу са чистим раствором *EDTA* (142, 143). Такође, додавање СНХ хелатним растворима нема утицај на њихов декалцифицирајући ефекат, како је показано за лимунску киселину (144). Осим тога у доступним литературним подацима није нађена статистички значајна разлика у количини уклоњеног *Ca* из узорака дентина који су третирани 5% *NaOCl*, а затим *EDTA* или *QMix* (7), што би било у сагласности са резултатима добијеним у нашем истраживању.

Ниво *Na* значајно се повећао након финалне иригације у *QMix*, *EDTA* и контролној групи у поређењу са необрађеним узорцима. Добијени резултат је у сагласности са студијом *Kolosowski* и сарадника (101), која је такође показала да иригација *EDTA* и *NaOCl*-ом утиче на повећање *Na*. Насупрот томе, резултати студије *Cobankara* и сарадника (100) показали су да *EDTA* не доводи до промена у садржају *Na*, али да лимунска киселина доводи до његовог смањења. Ово се може објаснити разликом у протоколу иригације, јер је у студији *Cobankara* и сарадника за иницијалну иригацију коришћена дестилована вода уместо *NaOCl*.

Значајно висок садржај *Na* у нашем истраживању у поменутиим експерименталним групама можда се може објаснити и чињеницом да је у испитиваним групама за иницијалну иригацију коришћена већа концентрација *NaOCl*-а (5,25%), за разлику од

MTAD групе где је по препорукама произвођача коришћена мања концентрација (1,3%), јер је показано да веће концентрације *NaOCl*-а имају израженији ефекат на микротврдоћу дентина, као индиректни показатељ његовог минералног састава (69).

Применом енергетско дисперзивне спектроскопије није измерено присуство *K* у узорцима нити једне експерименталне групе, и ако је у неким истраживањима показано да *EDTA*, лимунска киселина, *CHX* и *NaOCl* не мењају битно садржај *K* у дентину (100, 118). Један од разлога којима се може објаснити зашто у нашој студији није забележено присуство *K* у узорцима, је метода која је коришћена за мерење минералног састава дентина. Наиме у поменутиим студијама за процену минералног састава дентина коришћена је сензитивнија *ICP-AES* техника, која може мерити ниво минерала израже у $\mu\text{g/l}$, за разлику од *EDS* технике чији се ниво детекције изражава у mg/l .

6. ЗАКЉУЧЦИ

6. ЗАКЉУЧЦИ

На основу анализе резултата утицаја финалних ириганаса на ефикасност уклањања размазног слоја и минерални састав дентина добијених у овом истраживању, изведени су следећи закључци:

1. Применом иницијалне иригације *NaOCl*-ом и финалне иригације *EDTA*-, *MTAD*- и *QMix*-ом не долази до потпуног уклањања размазног слоја ни у једној трећини канала корена, што сугерише да *EDTA*, *MTAD* и *QMix* коришћени као финални ириганси, не уклањају у потпуности размазни слој.
2. Иригација канала корена 1,3% *NaOCl* и *MTAD* или 5,25% *NaOCl* и 17% *EDTA* или 5,25% *NaOCl* и *QMix* подједнако ефикасно уклања размазни слој у коронарној и средњој трећини канала корена.
3. Применом 5,25% *NaOCl* и *QMix* у иригацији канала корена, количина размазног слоја је значајно мања у апикалној трећини у поређењу са применом 5,25% *NaOCl* и 17% *EDTA*, што сугерише да уз примену 5,25% *NaOCl* у иницијалној иригацији, *QMix* показује бољи ефекат на уклањање размазног слоја у апикалној трећини од 17% *EDTA*.
4. Применом финалне иригације *QMix*-ом количина размазног слоја у апикалној трећини једнака је као и након финалне иригације *MTAD*-, што сугерише да су *QMix* и *MTAD* подједнако ефикасни у уклањању размазног слоја у апикалној трећини канала корена.

5. Најмању ефикасност у уклањању размазног слоја у апикалној трећини канала корена показује финална иригација 17% *EDTA* у поређењу са финалном иригацијом *MTAD* и *QMix*-ом.
6. Ефикасност финалних ириганса *EDTA*, *MTAD* и *QMix* у уклањању размазног слоја највећа је у коронарној трећини канала корена и прогресивно се смањује у коронарно-апикалном смеру.
7. Иницијална иригација 1,3% *NaOCl* уз финалну иригацију *MTAD* утиче на смањење укупне количине *Ca*, *P*, *O*, *Mg* и повећање *C*, *S*, *Ca/P* у саставу дентина канала корена.
8. Иригација комбинацијом 1,3% *NaOCl* и *MTAD* испољава сличан ефекат на минерални састав дентина, као и иригација 5,25% *NaOCl* и 17% *EDTA* или 5,25% *NaOCl* и *QMix*. Изузетак представља вредност *C* у односу на иригацију комбинацијом 5,25% *NaOCl* и 17% *EDTA*, као и вредност *S* у односу на иригацију комбинацијом 5,25% *NaOCl* и 17% *EDTA* или 5,25% *NaOCl* и *QMix*.
9. Минерални састав дентина након иригације комбинацијом 1,3% *NaOCl* и *MTAD* или 5,25% *NaOCl* и 17% *EDTA* или 5,25% *NaOCl* и *QMix*, у апикалној и коронарној трећини не разликује се од минералног састава дентина у необрађиваном каналу корена у апикалној и коронарној трећини. Изузетак представља вредност *Mg* након иригације комбинацијом 5,25% *NaOCl* и *QMix*, као и вредност *O* након иригације комбинацијом 5,25% *NaOCl* и 17% *EDTA*

7. ЛИТЕРАТУРА

7. ЛІТЕРАТУРА

1. Friedman S, Abitbol S, Lawrence HP. Treatment outcome in endodontics: the Toronto Study. Phase 1: initial treatment. *J Endod.* 2003;29(12):787-93.
2. Salehrabi R, Rotstein I. Endodontic treatment outcomes in a large patient population in the USA: an epidemiological study. *J Endod.* 2004;30(12):846-50.
3. Chandra A. Discuss the factors that affect the outcome of endodontic treatment. *Aust Endod J.* 2009;35(2):98-107.
4. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998;85(1):86-93.
5. Salehrabi R, Rotstein I. Epidemiologic evaluation of the outcomes of orthograde endodontic retreatment. *J Endod.* 2010;36(5):790-2.
6. Ricucci D, Siqueira Jr JF. Fate of the tissue in lateral canals and apical ramifications in response to pathologic conditions and treatment procedures. *J Endod.* 2010;36(1):1-15.
7. Taneja S, Kumari M, Anand S. Effect of QMix, peracetic acid and ethylenediaminetetraacetic acid on calcium loss and microhardness of root dentine. *J Conserv Dent.* 2014;17(2):155.
8. Aksel H, Serper A, Kalayci S, Somer G, Erisken C. Effects of QMix and ethylenediaminetetraacetic acid on decalcification and erosion of root canal dentin. *Microsc Res Tech.* 2016;79(11):1056-61.

9. Ballal NV, Jain I, Tay FR. Evaluation of the smear layer removal and decalcification effect of QMix, maleic acid and EDTA on root canal dentine. *J Dent*. 2016;51:62-8.
10. Tjäderhane L, Carrilho MR, Breschi L, Tay FR, Pashley DH. Dentin basic structure and composition—an overview. *Endod Top*. 2009;20(1):3-29.
11. Mitsiadis TA, Graf D. Cell fate determination during tooth development and regeneration. *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2009;87(3):199-211.
12. Tjäderhane L, Hietala E-L, Larmas M. Mineral element analysis of carious and sound rat dentin by electron probe microanalyzer combined with back-scattered electron image. *J Dent Res*. 1995;74(11):1770-4.
13. Zaslansky P, Zabler S, Fratzl P. 3D variations in human crown dentin tubule orientation: A phase-contrast microtomography study. *Dent Mater*. 2010;26(1):e1-e10.
14. Becker J, Schuppan D, Benzian H, Bals T, Hahn EG, Cantaluppi C, et al. Immunohistochemical distribution of collagens types IV, V, and VI and of pro-collagens types I and III in human alveolar bone and dentine. *J Histochem Cytochem*. 1986;34(11):1417-29.
15. Karjalainen S, Söderling E, Pelliniemi L, Foidart J. Immunohistochemical localization of types I and III collagen and fibronectin in the dentine of carious human teeth. *Arch Oral Biol*. 1986;31(12):801-6.
16. Mjör I, Nordahl I. The density and branching of dentinal tubules in human teeth. *Arch Oral Biol*. 1996;41(5):401-12.
17. Gotliv B-A, Veis A. Peritubular dentin, a vertebrate apatitic mineralized tissue without collagen: role of a phospholipid-proteolipid complex. *Calcif Tissue Int*. 2007;81(3):191-205.

18. Tjäderhane L, Haapasalo M. The dentin–pulp border: a dynamic interface between hard and soft tissues. *Endod Top.* 2009;20(1):52-84.
19. Mjör I, Smith M, Ferrari M, Mannocci F. The structure of dentine in the apical region of human teeth. *Int Endod J.* 2001;34(5):346-53.
20. Ponce EH, Sahli CC, Fernandez JAV. Study of dentinal tubule architecture of permanent upper premolars: evaluation by SEM. *Aust Endod J.* 2001;27(2):66-72.
21. Nalbandian J, Gonzales F, Sognaes RF. Sclerotic age changes in root dentin of human teeth as observed by optical, electron, and x-ray microscopy. *J Dent Res.* 1960;39(3):598-607.
22. Paqué F, Luder H, Sener B, Zehnder M. Tubular sclerosis rather than the smear layer impedes dye penetration into the dentine of endodontically instrumented root canals. *Int Endod J.* 2006;39(1):18-25.
23. Thaler A, Ebert J, Petschelt A, Pelka M. Influence of tooth age and root section on root dentine dye penetration. *Int Endod J.* 2008;41(12):1115-22.
24. Montoya C, Arango-Santander S, Peláez-Vargas A, Arola D, Ossa E. Effect of aging on the microstructure, hardness and chemical composition of dentin. *Arch Oral Biol.* 2015;60(12):1811-20.
25. Tjäderhane L. Dentin bonding: can we make it last? *Oper Dent.* 2015;40(1):4-18.
26. Nanci A. Ten cate's oral histology-Development, structure and function: 8th. Ed SL Elsvier. 2008.
27. Doğan H, Çalt S. Effects of chelating agents and sodium hypochlorite on mineral content of root dentin. *J Endod.* 2001;27(9):578-80.

28. Mjör IA. Human coronal dentine: structure and reactions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1972;33(5):810-23.
29. Violich D, Chandler N. The smear layer in endodontics—a review. *Int Endod J.* 2010;43(1):2-15.
30. McComb D, Smith DC. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J Endod.* 1975;1(7):238-42.
31. Torabinejad M, Walton RE. *Principles and practice of endodontics*: Saunders Philadelphia; 2002.
32. Dautel-Morazin A, Vulcain J-M, Bonnaure-Mallet M. An ultrastructural study of the smear layer: comparative aspects using secondary electron image and backscattered electron image. *J Endod.* 1994;20(11):531-4.
33. Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Bakland LK. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002;94(6):658-66.
34. Ahlquist M, Henningsson O, Hultenby K, Ohlin J. The effectiveness of manual and rotary techniques in the cleaning of root canals: a scanning electron microscopy study. *Int Endod J.* 2001;34(7):533-7.
35. Sjögren U, Hägglund B, Sundqvist G, Wing K. Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. *J Endod.* 1990;16(10):498-504.
36. Ram Z. Effectiveness of root canal irrigation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1977;44(2):306-12.

37. Schwartz RS. Adhesive dentistry and endodontics. Part 2: bonding in the root canal system-the promise and the problems: a review. *J Endod.* 2006;32(12):1125-34.
38. Pallares A, Faus V, Glickman GN. The adaptation of mechanically softened gutta-percha to the canal walls in the presence or absence of smear layer: a scanning electron microscopic study. *Int Endod J.* 1995;28(5):266-9.
39. Kouvas V, Liolios E, Vassiliadis L, Parissis-Messimeris S, Boutsoukias A. Influence of smear layer on depth of penetration of three endodontic sealers: an SEM study. *Endod Dent Traumatol.* 1998;14(4):191-5.
40. Taylor JK, Jeansonne BG, Lemon RR. Coronal leakage: effects of smear layer, obturation technique, and sealer. *J Endod.* 1997;23(8):508-12.
41. Davis SR, Brayton SM, Goldman M. The morphology of the prepared root canal: a study utilizing injectable silicone. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1972;34(4):642-8.
42. Bystrom A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res.* 1981;89(4):321-8.
43. Bystrom A, Claesson R, Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol.* 1985;1(5):170-5.
44. Chong BS, Pitt Ford TR. The role of intracanal medication in root canal treatment. *Int Endod J.* 1992;25(2):97-106.
45. Byström A, Sunqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J.* 1985;18(1):35-40.

46. Orstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dent Traumatol.* 1990;6(4):142-9.
47. Siqueira JF, Jr., De Uzeda M, Fonseca ME. A scanning electron microscopic evaluation of in vitro dentinal tubules penetration by selected anaerobic bacteria. *J Endod.* 1996;22(6):308-10.
48. Peters LB, Wesselink PR, Buijs JF, van Winkelhoff AJ. Viable bacteria in root dentinal tubules of teeth with apical periodontitis. *J Endod.* 2001;27(2):76-81.
49. Ando N, Hoshino E. Predominant obligate anaerobes invading the deep layers of root canal dentin. *Int Endod J.* 1990;23(1):20-7.
50. Naenni N, Thoma K, Zehnder M. Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. *J Endod.* 2004;30(11):785-7.
51. Hülsmann M, Heckendorff M, Lennon A. Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use. *Int Endod J.* 2003;36(12):810-30.
52. Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Dent Clin North Am.* 2010;54(2):291-312.
53. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod.* 2006;32(5):389-98.
54. Pesse AV, Warriar GR, Dhir VK. An experimental study of the gas entrapment process in closed-end microchannels. *Int J Heat Mass Transf.* 2005;48(25-26):5150-65.
55. Gu L-s, Kim JR, Ling J, Choi KK, Pashley DH, Tay FR. Review of contemporary irrigant agitation techniques and devices. *J Endod.* 2009;35(6):791-804.

56. Plotino G, Pameijer CH, Grande NM, Somma F. Ultrasonics in endodontics: a review of the literature. *J Endod.* 2007;33(2):81-95.
57. Nielsen BA, Baumgartner JC. Comparison of the EndoVac system to needle irrigation of root canals. *J Endod.* 2007;33(5):611-5.
58. Hauser V, Braun A, Frentzen M. Penetration depth of a dye marker into dentine using a novel hydrodynamic system (RinsEndo®). *Int Endod J.* 2007;40(8):644-52.
59. Basrani B, Haapasalo M. Update on endodontic irrigating solutions. *Endod Top.* 2012;27(1):74-102.
60. Behrents K, Speer M, Noujeim M. Sodium hypochlorite accident with evaluation by cone beam computed tomography. *Int Endod J.* 2012;45(5):492-8.
61. Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spanó JCE, Marchesan MA, Pécora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz Dent J.* 2002;13(2):113-7.
62. Mohammadi Z. Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. *Int Dent J.* 2008;58(6):329-41.
63. Stojicic S, Zivkovic S, Qian W, Zhang H, Haapasalo M. Tissue dissolution by sodium hypochlorite: effect of concentration, temperature, agitation, and surfactant. *J Endod.* 2010;36(9):1558-62.
64. Kuga MC, Gouveia-Jorge É, Tanomaru-Filho M, Guerreiro-Tanomaru JM, Bonetti-Filho I, Faria G. Penetration into dentin of sodium hypochlorite associated with acid solutions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011;112(6):e155-e9.

65. Siqueira Jr JF, Rôças 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. *J Endod.* 2000;26(6):331-4.
66. Radcliffe C, Potouridou L, Qureshi R, Hababbeh N, Qualtrough A, Worthington H, et al. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J.* 2004;37(7):438-46.
67. Marending M, Paque F, Fischer J, Zehnder M. Impact of irrigant sequence on mechanical properties of human root dentin. *J Endod.* 2007;33(11):1325-8.
68. Zaparolli D, Saquy PC, Cruz-Filho AM. Effect of sodium hypochlorite and EDTA irrigation, individually and in alternation, on dentin microhardness at the furcation area of mandibular molars. *Braz Dent J.* 2012;23(6):654-8.
69. Slutzky-Goldberg I, Maree M, Liberman R, Heling I. Effect of sodium hypochlorite on dentin microhardness. *J Endod.* 2004;30(12):880-2.
70. Sayin TC, Serper A, Cehreli ZC, Kalayci S. Calcium loss from root canal dentin following EDTA, EGTA, EDTAC, and tetracycline-HCl treatment with or without subsequent NaOCl irrigation. *J Endod.* 2007;33(5):581-4.
71. Marending M, Luder H, Brunner T, Knecht S, Stark WJ, Zehnder M. Effect of sodium hypochlorite on human root dentine—mechanical, chemical and structural evaluation. *Int Endod J.* 2007;40(10):786-93.

72. Grigoratos D, Knowles J, Ng YL, Gulabivala K. Effect of exposing dentine to sodium hypochlorite and calcium hydroxide on its flexural strength and elastic modulus. *Int Endod J*. 2001;34(2):113-9.
73. Hu X, Peng Y, Sum C-p, Ling J. Effects of concentrations and exposure times of sodium hypochlorite on dentin deproteination: attenuated total reflection Fourier transform infrared spectroscopy study. *J Endod*. 2010;36(12):2008-11.
74. Sayin TC, Cehreli ZC, Deniz D, Akcay A, Tuncel B, Dagli F, et al. Time-dependent decalcifying effects of endodontic irrigants with antibacterial properties. *J Endod*. 2009;35(2):280-3.
75. Cintra LTA, Watanabe S, Samuel RO, da Silva Facundo AC, de Azevedo Queiroz ÍO, Dezan-Júnior E, et al. The use of NaOCl in combination with CHX produces cytotoxic product. *Clin Oral Investig*. 2014;18(3):935-40.
76. Torabinejad M, Shabahang S, Aprecio RM, Kettering JD. The antimicrobial effect of MTAD: an in vitro investigation. *J Endod*. 2003;29(6):400-3.
77. Şen BH, Ertürk Ö, Pişkin B. The effect of different concentrations of EDTA on instrumented root canal walls. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;108(4):622-7.
78. Wu L, Mu Y, Deng X, Zhang S, Zhou D. Comparison of the effect of four decalcifying agents combined with 60 C 3% sodium hypochlorite on smear layer removal. *J Endod*. 2012;38(3):381-4.

79. Dai L, Khechen K, Khan S, Gillen B, Loushine BA, Wimmer CE, et al. The effect of QMix, an experimental antibacterial root canal irrigant, on removal of canal wall smear layer and debris. *J Endod.* 2011;37(1):80-4.
80. Calt S, Serper A. Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. *J Endod.* 2002;28(1):17-9.
81. Niu W, Yoshioka T, Kobayashi C, Suda H. A scanning electron microscopic study of dentinal erosion by final irrigation with EDTA and NaOCl solutions. *Int Endod J.* 2002;35(11):934-9.
82. Fromme H, Guttzeit R, Riedel H. Experimentelle Untersuchungen zur Frage der mechanischen und chemischen Wurzelkanalaufbereitung sowie zur Wandständigkeit von Wurzelfüllungsmaterialien. *Dtsch Zahnärztl.* 1970(25/9):865-76.
83. Uzunoglu E, Aktemur S, Uyanik MO, Durmaz V, Nagas E. Effect of ethylenediaminetetraacetic acid on root fracture with respect to concentration at different time exposures. *J Endod.* 2012;38(8):1110-3.
84. Torabinejad M, Khademi AA, Babagoli J, Cho Y, Johnson WB, Bozhilov K, et al. A new solution for the removal of the smear layer. *J Endod.* 2003;29(3):170-5.
85. Srikumar G, Sekhar K, Nischith K. Mixture tetracycline citric acid and detergent—A root canal irrigant. A review. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2013;3(1):31-5.
86. Tay FR, Hosoya Y, Loushine RJ, Pashley DH, Weller RN, Low DC. Ultrastructure of intraradicular dentin after irrigation with BioPure MTAD. II. The consequence of obturation with an epoxy resin-based sealer. *J Endod.* 2006;32(5):473-7.

87. Baumgartner JC, Johal S, Marshall JG. Comparison of the antimicrobial efficacy of 1.3% NaOCl/BioPure MTAD to 5.25% NaOCl/15% EDTA for root canal irrigation. *J Endod.* 2007;33(1):48-51.
88. Ulusoy Öİ, Görgül G. Effects of different irrigation solutions on root dentine microhardness, smear layer removal and erosion. *Aust Endod J.* 2013;39(2):66-72.
89. Machnick TK, Torabinejad M, Munoz CA, Shabahang S. Effect of MTAD on flexural strength and modulus of elasticity of dentin. *J Endod.* 2003;29(11):747-50.
90. Veeramachaneni Chandrasekhar VA, Rani VS, Prakash TJ, Ranjani AS, Gayathri C. Evaluation of biocompatibility of a new root canal irrigant Q Mix™ 2 in 1-An in vivo study. *J Conserv Dent.* 2013;16(1):36.
91. Stojicic S, Shen Y, Qian W, Johnson B, Haapasalo M. Antibacterial and smear layer removal ability of a novel irrigant, QMiX. *Int Endod J.* 2012;45(4):363-71.
92. Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. Effect of smear layer against disinfection protocols on *Enterococcus faecalis*-infected dentin. *J Endod.* 2013;39(11):1395-400.
93. Eliot C, Hatton JF, Stewart GP, Hildebolt CF, Gillespie MJ, Gutmann JL. The effect of the irrigant QMix on removal of canal wall smear layer: an ex vivo study. *Odontology.* 2014;102(2):232-40.
94. Ballal NV, Tweeny A, Khechen K, Prabhu KN, Tay FR. Wettability of root canal sealers on intraradicular dentine treated with different irrigating solutions. *J Dent.* 2013;41(6):556-60.
95. Aranda-Garcia AJ, Kuga MC, Vitorino KR, Chávez-Andrade GM, Hungaro Duarte MA, Bonetti-Filho I, et al. Effect of the root canal final rinse protocols on the debris and smear layer

removal and on the push-out strength of an epoxy-based sealer. *Microsc Res Tech.* 2013;76(5):533-7.

96. Arnold W, Gaengler P. Quantitative analysis of the calcium and phosphorus content of developing and permanent human teeth. *Ann Anat.* 2007;189(2):183-90.

97. Perdigão J, Eiriksson S, Rosa BT, Lopes M, Gomes G. Effect of calcium removal on dentin bond strengths. *Quintessence Int.* 2001;32(2).

98. Ballal NV, Mala K, Bhat KS. Evaluation of decalcifying effect of maleic acid and EDTA on root canal dentin using energy dispersive spectrometer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011;112(2):e78-e84.

99. Wang Z, Maezono H, Shen Y, Haapasalo M. Evaluation of root canal dentin erosion after different irrigation methods using energy-dispersive X-ray spectroscopy. *J Endod.* 2016;42(12):1834-9.

100. Cobankara FK, Erdogan H, Hamurcu M. Effects of chelating agents on the mineral content of root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011;112(6):e149-e54.

101. Kolosowski KP, Sodhi RN, Kishen A, Basrani BR. Qualitative time-of-flight secondary ion mass spectrometry analysis of root dentin irrigated with sodium hypochlorite, EDTA, or Chlorhexidine. *J Endod.* 2015;41(10):1672-7.

102. Yadav HK, Tikku A, Chandra A, Yadav RK, Patel DK. Efficacy of etidronic acid, BioPure MTAD and SmearClear in removing calcium ions from the root canal: An in vitro study. *Eur J Dent.* 2015;9(4):523.

103. Kumar Y, Lohar J, Bhat S, Bhati M, Gandhi A, Mehta A. Comparative evaluation of demineralization of radicular dentin with 17% ethylenediaminetetraacetic acid, 10% citric acid, and MTAD at different time intervals: An in vitro study. *J Int Soc Prev Community Dent.* 2016;6(1):44.
104. Zhang K, Tay FR, Kim YK, Mitchell JK, Kim JR, Carrilho M, et al. The effect of initial irrigation with two different sodium hypochlorite concentrations on the erosion of instrumented radicular dentin. *Dent Mater.* 2010;26(6):514-23.
105. Daculsi G, LeGeros R, Jean A, Kerebel B. Possible physico-chemical processes in human dentin caries. *J Dent Res.* 1987;66(8):1356-9.
106. 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):23-6.
107. Trautz OR. Crystallographic studies of calcium carbonate phosphate. *Ann N Y Acad Sci.* 1960;85(1):145-60.
108. Hülsmann M, Rummelin C, Schäfers F. Root canal cleanliness after preparation with different endodontic handpieces and hand instruments: a comparative SEM investigation. *J Endod.* 1997;23(5):301-6.
109. Gutarts R, Nusstein J, Reader A, Beck M. In vivo debridement efficacy of ultrasonic irrigation following hand-rotary instrumentation in human mandibular molars. *J Endod.* 2005;31(3):166-70.
110. Burleson A, Nusstein J, Reader A, Beck M. The in vivo evaluation of hand/rotary/ultrasound instrumentation in necrotic, human mandibular molars. *J Endod.* 2007;33(7):782-7.

111. Paqué F, Balmer M, Attin T, Peters OA. Preparation of oval-shaped root canals in mandibular molars using nickel-titanium rotary instruments: a micro-computed tomography study. *J Endod.* 2010;36(4):703-7.
112. Stavileci M, Hoxha V, Görduysus Ö, Tatar I, Laperre K, Hostens J, et al. Evaluation of root canal preparation using rotary system and hand instruments assessed by micro-computed tomography. *Med Sci Monit Basic Res.* 2015;21:123.
113. Tan BT, Messer HH. The quality of apical canal preparation using hand and rotary instruments with specific criteria for enlargement based on initial apical file size. *J Endod.* 2002;28(9):658-64.
114. Metzger Z, Solomonov M, Kfir A. The role of mechanical instrumentation in the cleaning of root canals. *Endod Top.* 2013;29(1):87-109.
115. Goldstein JI, Newbury DE, Michael JR, Ritchie NW, Scott JHJ, Joy DC. *Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis*: Springer; 2017.
116. Amaral P, Forner L, Llena C. Smear layer removal in canals shaped with reciprocating rotary systems. *J Clin Exp Dent.* 2013;5(5):e227.
117. Caron G, Nham K, Bronnec F, Machtou P. Effectiveness of different final irrigant activation protocols on smear layer removal in curved canals. *J Endod.* 2010;36(8):1361-6.
118. Ari H, Erdemir A. Effects of endodontic irrigation solutions on mineral content of root canal dentin using ICP-AES technique. *J Endod.* 2005;31(3):187-9.
119. Pérez-Heredia M, Ferrer-Luque C, González-Rodríguez M, Martín-Peinado F, González-López S. Decalcifying effect of 15% EDTA, 15% citric acid, 5% phosphoric acid and 2.5% sodium hypochlorite on root canal dentine. *Int Endod J.* 2008;41(5):418-23.

120. Pascon FM, Puppini-Rontani RM, Kantovitz KR, Soares LE, do Espirito Santo AM, Martin AA. Morphological and chemical changes in dentin after using endodontic agents: Fourier transform Raman spectroscopy, energy-dispersive x-ray fluorescence spectrometry, and scanning electron microscopy study. *J Biomed Opt.* 2012;17(7):075008.
121. Cruz-Filho AM, Sousa-Neto MD, Savioli RN, Silva RG, Vansan LP, Pécora JD. Effect of chelating solutions on the microhardness of root canal lumen dentin. *J Endod.* 2011;37(3):358-62.
122. Åkesson K, Grynpe M, Hancock R, Odselius R, Obrant K. Energy-dispersive X-ray microanalysis of the bone mineral content in human trabecular bone: a comparison with ICPEs and neutron activation analysis. *Calcif Tissue Int* 1994;55(3):236-9.
123. De-Deus G, Reis C, Fidel S, Fidel R, Paciornik S. Dentin demineralization when subjected to BioPure MTAD: a longitudinal and quantitative assessment. *J Endod.* 2007;33(11):1364-8.
124. Donald AM. The use of environmental scanning electron microscopy for imaging wet and insulating materials. *Nat Mater.* 2003;2(8):511.
125. Daskalova A, Bashir S, Husinsky W. Morphology of ablation craters generated by ultra-short laser pulses in dentin surfaces: AFM and ESEM evaluation. *App Surf Sci.* 2010;257(3):1119-24.
126. Grande NM, Plotino G, Falanga A, Pomponi M, Somma F. Interaction between EDTA and sodium hypochlorite: a nuclear magnetic resonance analysis. *J Endod.* 2006;32(5):460-4.

127. Rossi-Fedele G, Dođramacı EJ, Guastalli AR, Steier L, de Figueiredo JAP. Antagonistic interactions between sodium hypochlorite, chlorhexidine, EDTA, and citric acid. *J Endod* 2012;38(4):426-31.
128. Ballal NV, Kandian S, Mala K, Bhat KS, Acharya S. Comparison of the efficacy of maleic acid and ethylenediaminetetraacetic acid in smear layer removal from instrumented human root canal: a scanning electron microscopic study. *J Endod*. 2009;35(11):1573-6.
129. Mancini M, Armellin E, Casaglia A, Cerroni L, Cianconi L. A comparative study of smear layer removal and erosion in apical intraradicular dentine with three irrigating solutions: a scanning electron microscopy evaluation. *J Endod*. 2009;35(6):900-3.
130. Rasimick BJ, Nekich M, Hladek MM, Musikant BL, Deutsch AS. Interaction between chlorhexidine digluconate and EDTA. *J Endod*. 2008;34(12):1521-3.
131. Jardine AP, Da Rosa RA, Santini MF, Wagner M, Só MVR, Kuga MC, et al. The effect of final irrigation on the penetrability of an epoxy resin-based sealer into dentinal tubules: a confocal microscopy study. *Clin Oral Investig*. 2016;20(1):117-23.
132. Vemuri S, Kolanu SK, Varri S, Pabbati RK, Penumaka R, Bolla N. Effect of different final irrigating solutions on smear layer removal in apical third of root canal: A scanning electron microscope study. *J Conserv Dent*. 2016;19(1):87.
133. Ali Mozayeni M, Hossein Javaheri G, Poorroosta P, Asna Ashari M, Hossein Javaheri H. Effect of 17% EDTA and MTAD on intracanal smear layer removal: a scanning electron microscopic study. *Aust Endod J*. 2009;35(1):13-7.

134. Ferraz CCR, de Almeida Gomes BPF, Zaia AA, Teixeira FB, de Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *J Endod.* 2001;27(7):452-5.
135. Giardino L, Ambu E, Becce C, Rimondini L, Morra M. Surface tension comparison of four common root canal irrigants and two new irrigants containing antibiotic. *J Endod.* 2006;32(11):1091-3.
136. Giardino L, Andrade FBd, Beltrami R. Antimicrobial effect and surface tension of some chelating solutions with added surfactants. *Braz Dent J.* 2016;27(5):584-8.
137. Verdellis K, Ellades G, Ovlr T, Margelos J. Effect of chelating agents on the molecular composition and extent of decalcification at cervical, middle and apical root dentin locations. *Endod Dent Traumatol.* 1999;15(4):164-70.
138. Lottanti S, Gautschi H, Sener B, Zehnder M. Effects of ethylenediaminetetraacetic, etidronic and peracetic acid irrigation on human root dentine and the smear layer. *Int Endod J.* 2009;42(4):335-43.
139. Ramírez-Bommer C, Gulabivala K, Ng YL, Young A. Estimated depth of apatite and collagen degradation in human dentine by sequential exposure to sodium hypochlorite and EDTA: a quantitative FTIR study. *Int Endod J.* 2018;51(4):469-78.
140. Oliveira LD, Carvalho CAT, Nunes W, Valera MC, Camargo CHR, Jorge AOC. Effects of chlorhexidine and sodium hypochlorite on the microhardness of root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007;104(4):e125-e8.
141. Akcay I, Sen BH. The effect of surfactant addition to EDTA on microhardness of root dentin. *J Endod.* 2012;38(5):704-7.

142. Zehnder M, Schmidlin P, Sener B, Waltimo T. Chelation in root canal therapy reconsidered. *J Endod.* 2005;31(11):817-20.
143. Poggio C, Dagna A, Colombo M, Scribante A, Chiesa M. Decalcifying efficacy of different irrigating solutions: effect of cetrimide addition. *Braz Oral Res.* 2014;28:1-6.
144. Gonzalez-Lopez S, Camejo-Aguilar D, Sanchez-Sanchez P, Bolanos-Carmona V. Effect of CHX on the decalcifying effect of 10% citric acid, 20% citric acid, or 17% EDTA. *J Endod.* 2006;32(8):781-4.