

ULTRASTRUKTURNA ANALIZA DENTINSKE
POVRŠINE KAVITETA NAKON UKLANJANJA
RAZMAZNOG SLOJA Natrijum HIPOHLORITOM I
LIMUNSKOM KISELINOM



Autor:

Prof. dr Nadica Mitic

Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu; Klinika za stomatologiju – odeljenje bolesti zuba i endodoncija;

SAŽETAK

Uklanjanje razmaznog sloja sa dentinske površine posle mašinske preparacije moguće je efikasno ostvariti upotrebom 10% rastvora limunske kiseline u kombinaciji sa 2,5% NaOCl.

Istraživanja bio je da se pomoću elektronske mikroskopije (SEM) analizira izgled dentinske površine kaviteta posle mašinske instrumentacije i dezinfekcije kaviteta 2,5% NaOCl i 10% limunskom kiselinom u trajanju od 20, 30, 40, 60 sekundi i 5 minuta.

Ultrastrukturalna analiza dentinske površine obuhvatila je ukupno 40 mandibularnih i maksilarnih molara i premolara sa evidentnim karioznim lezijama, ekstrahiranih iz različitih razloga, kod bolesnika starosne dobi od 38 do 57 godina, oba pola. U prvoj (kontrolnoj) grupi (n=10) preparacija kaviteta prve klase izvršena je klasičnom mašinskom tehnikom po principima Bleka (Black). Dezinfekcija kaviteta nije urađena. Eksperimentalna, druga grupa (n=30) podeljena je u pet podgrupa, u odnosu na vreme kondicioniranja limunskom kiselinom, u 5 podgrupa (20, 30, 40, 60 sekundi i 5 minuta).

Posle tretmana dentinske površine 10% rastvorom limunske kiseline u trajanju od 20, 30 i 40 sekundi, debris i razmazni sloj sa dentinske površine nisu uspešno uklonjeni. Ista koncentracija limunske kiseline primenjena u trajanju od 60 sekundi, efikasno je uklonila debris i razmazni sloj, a struktura dentina je ostala intaktna. Po našim rezultatima 10% rastvor limunske kiseline primenjen u trajanju od 5 minuta dovodi do snažne demineralizacije inter i intratubularnog dentina.

Optimalna koncentracija limunske kiseline za efikasno uklanjanje razmaznog sloja sa dentinske površine je 10%, a optimalno vreme je 60 sekundi.

Ključne reči: limunska kiselina, razmazni sloj, vreme

UVOD

Posle preparacije kaviteta bilo kojom tehnikom i instrumentima stvara se **razmazni sloj (smear layer)**, u vidu tankog mikrosloja koji strukturno ima izgled glatke amorfne ili

granulirane mase koja prekriva dentinske površine kaviteta, a dentinske kanaliće zatvara u vidu intratubularnih čepova do dubine $40 \mu\text{m}^{1,2}$.

Stvoren tokom preparacije, razmazni sloj se sastoji od neorganskog (hidroksiapatit



dentina) i organskog dela (proteinski aglomerati, fragmenti odontoblastičnih procesusa, bakterije i kolagena vlakna).

Formiranje razmaznog sloja je fizički proces, a ne biološka reakcija. Međutim, u biološkom kontekstu kliničku implikaciju daje njegova količina. Razmazni sloj koji zaostaje posle instrumentacije, povećava adheziju bakterija za dentinsku površinu, pokriva i maskira otvore presečenih tubula, kao i celokupnu normalnu strukturu dentina. S obzirom da nema stabilnu strukturu, mora se ukloniti kako bi se dobila optimalna hemijska i mehanička veza između dentinske strukture zuba i materijala za definitivnu opturaciju. Razmazni sloj, kao porozna struktura je permeabilna za makromolekule kao što je albumin, te se otuda smatra da razmazni sloj koji sadrži organske materije, bakterije i njihove produkte može da postane rezervoar mikroorganizama i stalno mikrobno žarište. Zato je opšte prihvaćen stav da razmazni sloj kao fokusno žarište treba eliminisati².

Efikasno uklanjanje razmaznog sloja moguće je samo ukoliko antiseptičko sredstvo ili kombinacija antiseptika ima organolitičko, mineralolitičko i antimikrobno dejstvo, pod uslovom da ne menja strukturu dentina i da su netoksični za tkivo pulpe.

Jedan od najefikasnijih organolitičkih antiseptika koji se koristi u različitim koncentracijama od 0,5- 6% je **natrijum hipohlorit (NaOCl)**.

Organolitičko dejstvo NaOCl zasniva se na proteolitičkom efektu i procesima oksidacije i razgradnje proteina koji sadrže aminokiseline cistein i metionin, odnosno njihovih sulfhidrilnih hemijskih grupa.

Batericidni efekat NaOCl je zasnovan na hemijskoj razgradnji bakterijske membrane i nukleotidnih baza bakterijske DNK.

Upoređivanjem bioloških efekata blagog i jakog rastvora NaOCl, dokazano je da u većim koncentracijama ima veću citotoksičnost i kaustični efekat na zdrava tkiva, stoga se preporučuje upotreba manjih

koncentracija NaOCl (1,3 %, 2,5%) i većih količina rastvora da bi se izbeglo neželjeno dejstvo.

Limunska kiselina je slaba organska kiselina iz grupe helatnih sredstava, čije se dejstvo bazira na izdvajanju jona kalcijuma iz kristalne rešetke hidroksiapatita.

Razmazni sloj je pretežno neorganskog sastava, rastvorljiv u kiselinama, te se za njegovo uklanjanje, kao finalni irigans sa mineralolitičkim efektom, može koristiti i rastvor limunske kiseline.

Limunska kiselina kao 10% rastvor efikasna je u kondicioniranju dentina u restaurativnoj stomatologiji, koristi se u parodontologiji za tretman cementa zuba kod parodontalnih oboljenja, a od nedavno i u postupku uklanjanja razmaznog sloja sa mehanički obrađenog intrakanalnog dentina.

Da bi se izbeglo snažno nagrizanje i eventualne erozije dentina, vreme delovanja limunske kiseline mora se ograničiti na 20 sekundi do 1 minuta.

Primena natrijum hipohlorita kao organolitika može da dovede do nagle neutralizacije, promene pH i oslobađanja gasova hlorida.

Veće koncentracije limunske kiseline mogu da heliraju jone kalcijuma iz dentina i tako dovedu do stvaranja formacija kristala kalcijum citrata.

CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj istraživanja bio je ultrastrukturna (SEM) analiza izgleda dentinske površine kaviteta posle mašinske instrumentacije i dezinfekcije kaviteta 2,5% NaOCl i 10% limunskom kiselinom u trajanju od 20, 30 ,40 ,60 sekundi i 5 minuta.

Komparativna analiza dobijenih rezultata ukazaće na *optimalno vreme* kondicioniranja dentina limunskom kiselinom u cilju uklanjanja debrisa i razmaznog sloja, pri čemu dentinska



struktura mora ostati intaktna i morfološki nepromenjena.

MATERIJAL I METODE

Ultrastrukturalna analiza dentinske površine obuhvatila je ukupno 40 mandibularnih i maksilarnih molara i premolara sa evidentnim karioznim lezijama, ekstrahiranih iz različitih razloga, kod bolesnika starosne dobi od 38 do 57 godina oba pola.

U prvoj (kontrolnoj) grupi (n = 10) preparacija kaviteta prve klase izvršena je klasičnom mašinskom tehnikom po principima Bleka (Black). Dezinfekcija kaviteta nije urađena.

U drugoj grupi (n=30) - preparacija kaviteta prve klase urađena je mašinskom tehnikom po principima Bleka (Black). Dezinfekcija kaviteta je urađena 2,5% natrijum hipohloritom-NaOCl i 10% limunskom kiselinom, pri čemu je:

- Uzorak broj 1 (n = 6) tretiran limunskom kiselinom u trajanju od 20 sekundi
- Uzorak broj 2 (n = 6) tretiran limunskom kiselinom u trajanju od 30 sekundi
- Uzorak broj 3 (n = 6) tretiran limunskom kiselinom u trajanju od 40 sekundi
- Uzorak broj 4 (n = 6) tretiran limunskom kiselinom u trajanju od 60 sekundi

- Uzorak broj 5 (n = 6) tretiran limunskom kiselinom u trajanju od 5 minuta.

Nakon primene limunske kiseline izvršena je neutralizacija limunske kiseline, čišćenjem dentinske površine natrijum hipohloritom (2,5%NaOCl).

Posle uklanjanja razmaznog sloja, zubi obe grupe pripremljeni su standardnom procedurom za SEM (JEOL JSM –5300). Skening elektronska mikroskopija je urađena na Institutu za biomedicinska istraživanja Medicinskog fakulteta u Nišu.

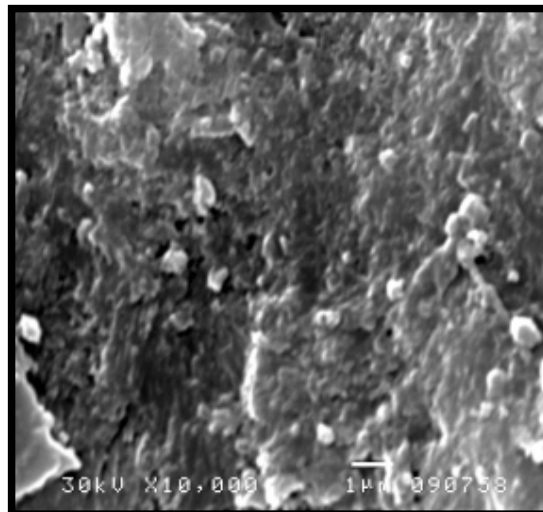
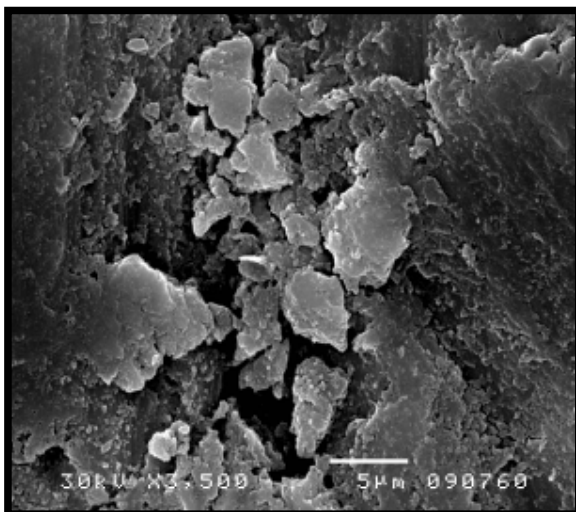
REZULTATI

I Kontrolna grupa

Skening elektronska mikrofografija kontrolnih uzoraka pokazala je prisustvo masivnog dentinskog debrisa sa krupnim partikulama ispod kojih se nalazi razmazni sloj. Dentinski tubuli su potpuno zatvoreni (Sl.1. i Sl.2).

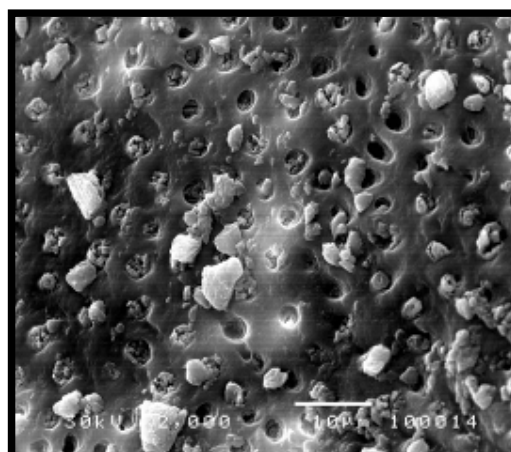
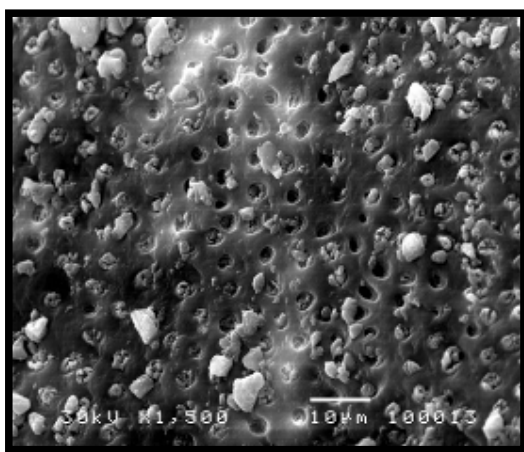
II GRUPA

Ultrastrukturalna analiza mašinski preparisanog kaviteta, nakon ispiranja organolitikom 2,5% NaOCl i 10% limunskom kiselinom (posle čega je izvršena i neutralizacija kiseline natrijum hipohloritom), u zavisnosti od dužine dejstva limunske kiseline, dala je sledeće rezultate:



Sl.1. i Sl.2. Kontrolni uzorak. Razmazni sloj i krupne dentinske partikule na površini preparisanog dentina u potpunosti maskiraju otvore dentinskih kanalića

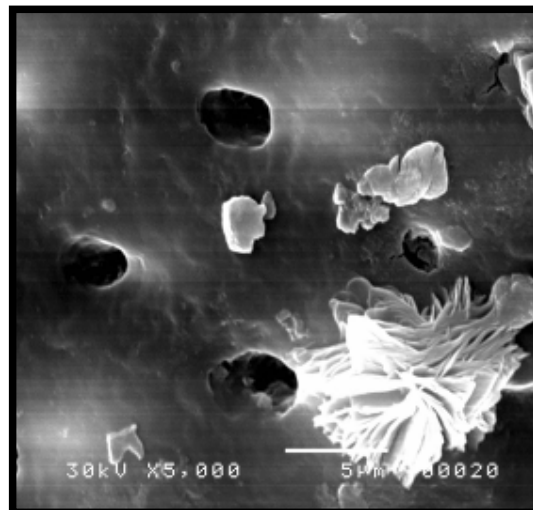
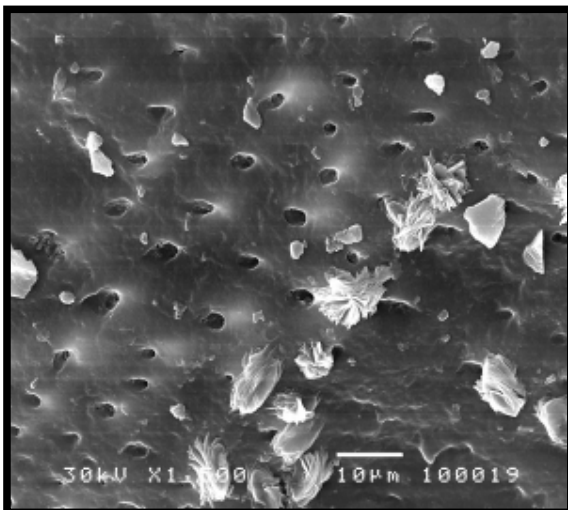
II.1. Nakon 20 sekundi delovanja limunske kiseline SEM mikrografije ukazuju na prisustvo masivnog dentinskog debris sa krupnim dentinskim partikulama ispod kojih se nalazi razmazni sloj. Dentinski tubuli su samo mestimično otvoreni. Prisutne su intratubularno formacije gusto sabijenog dentinskog debris i razmaznog sloja u vidu "čepa" (Sl.3. i Sl.4.).



Sl.3. i Sl.4. SEM mikrografije pulparnog zida kaviteta tretiranog limunskom kiselinom u trajanju od 20 sekundi. Prisutan dentinski debris sa krupnim partikulama ispod kojih se nalazi razmazni sloj. Dentinski tubuli su samo mestimično otvoreni, a većina okludirana gusto sabijenim dentinskim debrisom i razmaznim slojem.

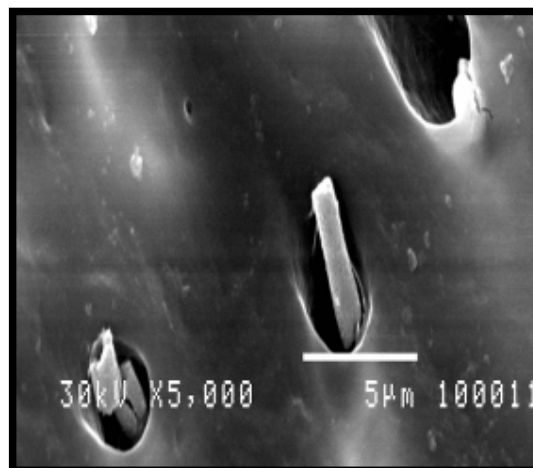
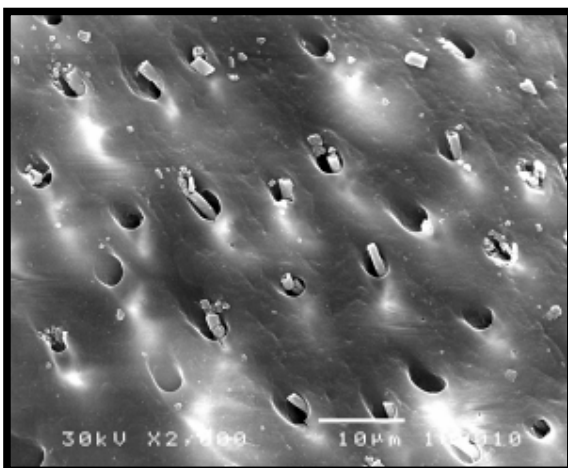


II.2. Nakon 30 sekundi delovanja limunske kiseline SEM mikrografije ukazuju na prisustvo sitnih dentinskih partikula ispod kojih se nalazi razmazni sloj. Dentinski tubuli su otvoreni, neujednačenog dijametra i oblika. Zbog heliranja Ca^{2+} iz dentina stvorene su formacije kalcijum citrata (Sl.5. i Sl.6.).



Slika 5. i Slika 6. SEM mikrografije pulpnog zida kaviteta tretiranog limunskom kiselinom u trajanju od 30 sekundi. Relativno "čista" dentinska površina sa otvorenim kanalićima, neujednačenog dijametra. Prisutna kristalna struktura kalcijum citrata.

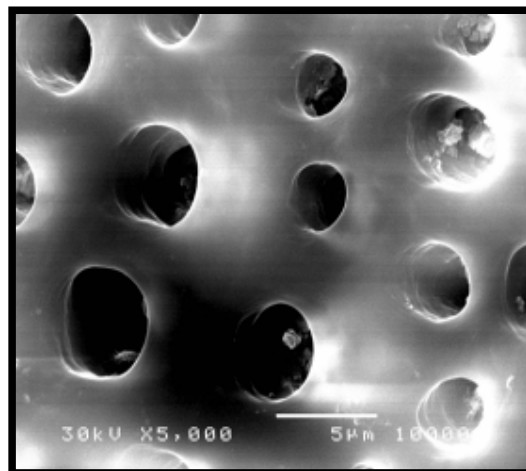
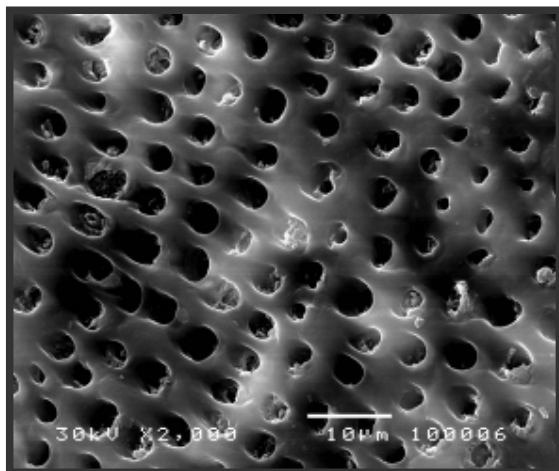
II.3. Nakon 40 sekundi delovanja limunske kiseline, SEM mikrografije ukazuju na prisustvo sitnih dentinskih partikula. Dentinski tubuli su otvoreni. Uočena su i presečena Tomesova vlakna (Sl.7. i Sl.8.).



Slika 7. i Slika 8. SEM mikrografija pulpnog zida kaviteta posle primene limunske kiseline u trajanju od 40 sekundi. Relativno "čista" dentinska površina sa mestimičnim sitnim dentinskim partikuluma. Dentinski kanalići su otvoreni i iz njih prominiraju presečeni odontoblastični procesusi (Tomesova vlakna).

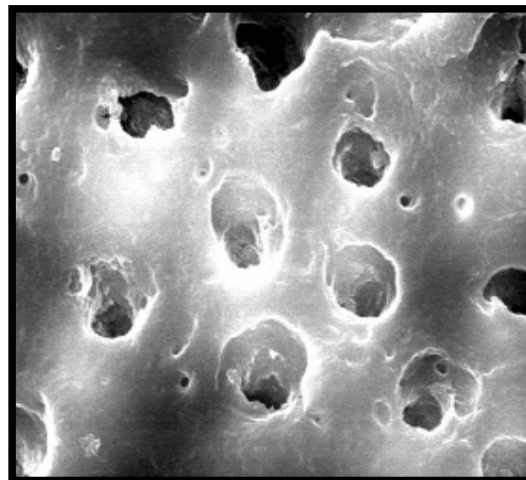
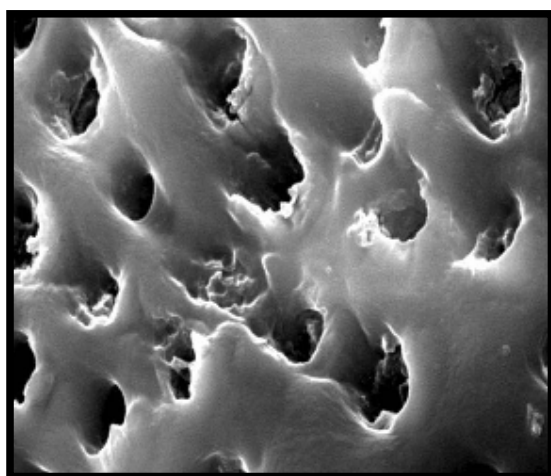


II.4. Nakon 60 sekundi delovanja limunske kiseline, SEM mikrografije pokazuju efikasno uklonjen debris i razmazni sloj, a dentinska struktura je ostala intaktna i morfološki nepromenjena (Sl.9. i Sl.10.).



Slika 9. i Slika 10. SEM mikrografije pulparnog zida kaviteta tretiranog limunskom kiselinom u trajanju od 60 sekundi. Čista dentinska površina, dentinski kanalići otvoreni, ujednačenog dijametra. Struktura dentinske površine je očuvana.

II.5. Nakon 5 minuta delovanja limunske kiseline SEM mikrografije pokazuju jaku eroziju intertubularnog i peritubularnog dentina. Otvori dentinskih tubula su levkasti, nazupčeni i mestimično kavernožno spojeni (Sl.11. i Sl.12.).



Slika 11. i Slika 12. SEM mikrografija pulparnog zida kaviteta tretiranog 5 minuta limunskom kiselinom. Kompletно izmenjena dentinska površina sa izuzetno snažnom erozijom intra i intertubularnog dentina sa kavernožno erodiranim dentinskim kanalićima.



DISKUSIJA

Razmazni sloj je pretežno neorganskog sastava, veoma rastvorljiv u kiselinama. Za uklanjanje razmaznog sloja, kao irigans sa mineralolitičkim dejstvom može se koristiti i rastvor limunske kiseline^{1,2}.

Limunska kiselina je slaba organska kiselina koja pripada grupi helatnih sredstava, čije se dejstvo bazira na izdvajanju jona kalcijuma iz kristalne rešetke hidroksiapatita dentina. Koristi se u parodontologiji za tretman cementa zuba kod parodontalnih oboljenja^{3,4}.

Limunska kiselina je efikasna u kondicioniranju dentina u restaurativnoj stomatologiji, a o efikasnom uklanjanju razmaznog sloja sa dentina izvestili su Yamaguchi⁵, Takeda⁶, Di Lenarda⁷ i Petrović⁸.

Limunska kiselina (citric acid) se danas koristi kao 10% rastvor za kondicioniranje dentina. Bilo je pokušaja kondicioniranja dentina 50% rastvorom limunske kiseline u trajanju od 15 sekundi, što je dalo loše rezultate, jer je dolazilo do snažne demineralizacije intra i intertubularnog dentina sa širokim otvaranjem dentinskih kanalića⁹.

Različite koncentracije organskih ili neorganskih kiselina koje uklanjaju ili modifikuju razmazni sloj imaju mineralolitički efekat i u kombinaciji sa adekvatnim organolitičkim sredstvom efikasno uklanjaju debris i razmazni sloj, imaju antibakterijski efekat, ne deluju toksično po tkivo pulpe, a morfološka struktura dentina ostaje intaktna¹⁰.

Kiseline brzo difunduju kroz dentin i lako mogu oštetiti pulpu, zbog čega je neophodno pre početka kondicioniranja

poznavati konstantu disocijacije, odnosno jačinu kiseline koja se koristi za ispiranje površine dentina. Iz tih razloga potrebno je koristiti razblažene kiseline sa niskom konstantom disocijacije čime se postiže efikasno kondicioniranje bezbedno po pulpu.¹

Drugi parametar koji određuje efikasnost kondicionera ali i čuva morfološku strukturu dentina je **vreme** tretmana dentina kiselinom¹⁰.

Efikasnost kondicionera- određuje više faktora: koncentracija, pH vrednost, veličina dentinskog polja, „starost“ dentinskog tkiva, vreme i tehnika aplikacije. Treba imati u vidu i činjenicu da struktura tkiva dentina smanjuje antimikrobno dejstvo raznih sredstava, jer hidroksiapatit dentina poseduje pufersko dejstvo, te može da bude donor protona i uzrokuje promenu pH i umanjuje dejstvo različitih hemijskih agenasa pri njihovom kontaktu sa dentinskim zidom.

Limunska kiselina kao organska kiselina pripada slabim kiselinama. Međutim ona ima malu molekulska težinu što povećava njenu difuzionu moć, permeabilnost i potencijal za reagovanje pulpe.

Yamaguchi i sar.⁵ su upoređivali helatna i antibakterijska svojstva 10% limunske kiseline i 17% EDTA. Ispitujući dekalcifikujući kapacitet 0,1 mol/L rastvora (pH - 2,6), 0,5 mol/L rastvora (pH - 1,6), 1 mol/L rastvora (pH - 1,3) i 2 mol/L rastvora (pH - 1,1) rastvora limunske kiseline, zaključili su da je vezivanje Ca²⁺ jona sa 0,5 M, 1 M i 2 M rastvorima limunske kiseline izraženije nego sa 0,5 M rastvorom EDTA. Na osnovu dobijenih rezultata autori su zaključili da je dekalcifikujući kapacitet limunske kiseline, posledica helacije kalcijumovih jona i izražene kiselosti rastvora. Razmazni sloj se efikasnije eliminiše



sa 0,5, 1, i 2 mol/L rastvora limunske kiseline nego sa 0,5 mol/L EDTA rastvora⁸. Rastvor limunske kiseline je pokazao antibakterijske efekte na svih 12 testiranih bakterijskih vrsta u kanalu korena.

Međutim, Liolios i sar.¹¹ su dali izveštaj o boljem uklanjanju razmaznog sloja komercijalnim EDTA preparatima nego 50% limunskom kiselinom.

Di Lenarda i sar.⁷ su izneli tvrdnju da postoje male ili nikakve razlike u efikasnosti otklanjanju razmaznog sloja limunskom kiselinom i 15% EDTA. Njihovi rezultati su ukazali na sličnu efikasnost 19% rastvora limunske kiseline (1mol/L) i 15% rastvor EDTA.

Po rezultatima Petrović⁸ 10% limunska kiselina je efikasna u uklanjanju razmaznog sloja sa zidova kanala korena i potpunom čišćenju kanalskog sistema te se može koristiti kao finalni irigans tokom endodontskog tretmana. Da bi se izbeglo snažno nagrizanje i eventualne erozije dentina, vreme delovanja limunske kiseline se mora ograničiti na 20 sec. do 1 min.⁷. Osnovni problem primene limunske kiseline je kiselost rastvora i mogućnost akcidentalnog kontakta sa mekim tkivima usne duplje. Kombinovana primena sa NaOCl može da dovede do nagle neutralizacije, promene pH i oslobađanja gasova hlorida.⁷ Veće koncentracije limunske kiseline mogu da heliraju Ca^{2+} iz dentina i tako dovedu do stvaranja formacija kristala kalcijum citrata u kanalu korena¹².

Fabrički gotovi proizvodi su: 19% rastvor limunske kiseline Canal Clean (Ognapharma, Italy); 10% rastvor limunske kiseline Citric acid solution (Ultradent) – za kanalnu aplikaciju, Cetrimide.

U ovom istraživanju, posle tretmana dentinske površine 10% rastvorom limunske kiseline od 60 sekundi dobijeni su optimalni

rezultati. Ista koncentracija primenjena u vremenu od 20, 30 i 40 sekundi nije dala zadovoljavajuće rezultate. Po našim rezultatima ista koncentracija limunske kiseline primenjena u trajanju od 5 minuta dovodi do snažne demineralizacije cirkumpulparnog dentina, levkastog otvaranja dentinskih kanalića i kavernoznih proširenja. Ovi rezultati su najbliži preporuci Petrić⁸ i Yamaguchi i sar.⁵ koji preporučuju 10% rastvor limunske kiseline, ali ne preciziraju vreme već daju mogućnost od 20 do 60 sekundi primene. Po našim rezultatima vreme kondicioniranja dentina rastvorom 10% limunske kiseline mora biti strogo precizirano na 60 sekundi.

ZAKLJUČCI

- Mašinskom instrumentacijom karioznog dentina stvara se dentinski debris i razmazni sloj koji se ne razlikuje po količini već po izgledu i strukturi.
- Primena 2,5% NaOCl i 10% limunske kiseline u trajanju od 20, 30 i 40 sekundi ne uklanja kompletno dentinski debris i razmazni sloj sa preparisane površine dentina i ne eliminiše bakterijski supstrat.
- Primena 2,5% NaOCl i 10% limunske kiseline u trajanju od 60 sekundi daje optimalne rezultate. Efikasno je uklanjanje debris i razmazni sloj, a dentinska struktura ostala je intaktna i morfološki nepromenjena.
- Primena 2,5% NaOCl i 10% limunske kiseline u trajanju od 5



minuta ima snažan erozivni efekat na dentinsko tkivo te se ovo vreme ne preporučuje.

- Optimalna koncentracija limunske kiseline je 10%, a optimalno vreme je 60 sekundi.

LITERATURA

1. Živković S, Brkanić T, Dačić D, Opačić V, Pavlović V. Razmazni sloj u endodonciji. *Stom Glas S* 2005; 52: 7-19.
2. Živković S, Kolar M, Blažić L, Vučetić M, Tošić T. Razmazni sloj na dentinu u restorativnoj stomatologiji. *Stom Glas S* 2004; 51: 169-75.
3. Di Lenarda R, Cernaz A, Sbaizero O. Effects of citric endodontic irrigation on smear layer removal and dentinal microhardness. In: Proceedings of the VIII Biennial Congress of European Society of Endodontology, Gotebrg, Sweden. *European Society of Endodontology* 1997; 20.
4. Khademia F. The effect of EDTA and citric acid on smear layer removal of mesial canals of first mandibular molars-a scanning electron microscopic study. *J Res Med Scien* 2004; 2: 75-9.
5. Yamaguchi M, Yoshida K, Suzuki R, Nakamura H. Root canal irrigation with citric acid solution. *J Endod* 1996; 22: 27-29.
6. Takeda FH, Harashima T, Kimura Y, Matsumoto K. A comparative study of the removal of the smear layer by three endodontic irrigants and two types of laser. *Int Endod* 1999; 32: 32-9.
7. Di Lenarda R, Cernaz A, Sbaizero O. Effects of citric endodontic irrigation on smear layer removal and dentinal microhardness. In: Proceedings of the VIII Biennial Congress of European Society of Endodontology, Gotebrg, Sweden. *European Society of Endodontology* 1997; 20.
8. Petrović V, Živković S. Uklanjanje razmaznog sloja rastvorom limunske kiseline. *Stom Glas S*, 2005; 52; 4: 193-99.
9. Marković B, Spasić M, Stanković M. Uticaj različitih kondicionera na izgled dentinske površine (SEM) istraživanje. 45. kongres studenata medicine i stomatologije Srbije i Crne Gore, Zbornik sažetaka. Maj 3.-7., Budva, Crna Gora, 2004; 428.
10. Mitić A. Ultrastruktorno ispitivanje dentinske površine kanala korena zuba posle primene hemomehaničke, ultrazvučne i laserske tehnike, doktorska disertacija, Niš 2009.
11. Liolios E, Economides N, Parisis-Messimeris S, Boutsoukis A. The effectiveness of three irrigating solutions on root canal cleaning after hand and mechanical preparation. *Int Endod J* 1997; 10: 51-7.
12. Haznedaroglu F, Ersev H. Tetracycline HCl solution as a root canal irrigant. *J Endod* 2001; 27: 738-40.



ULTRASTRUCTURAL ANALYSIS OF CAVITY DENTIN SURFACE AFTER REMOVAL OF SMEAR LAYER WITH NATRIUM HYPOCHLORITE AND CITRIC ACID

Prof. dr Nadica Mitic

Removal of smear layer from dentin surface after machine preparation can be effective by using 10% solution of citric acid in combination with 2,5% NaOCl.

of researching is SEM analysis of cavity dentin surface after machine preparation and disinfection of the cavity by 2,5% NaOCl and 10% citric acid in length of 20, 30, 40, 60 seconds and 5 minutes.

Ultrastructural analysis of dentin surface involved 40 mandibular and maxillary molars and premolars, with obvious caries lesions, extracted because of various reasons, in patients aged 38- 57, of both sexes. In the first (control) group (n=10) the first class cavity preparation was performed following the Black principles. Disinfection of cavity was not done. Experimental, second group (n=30) was divided into 5 subgroups, due to the time of conditioning with citric acid (20, 30, 40, 60 seconds and 5 minutes).

After the treatment of dentin surface with 10% solution of citric acid in length of 20, 30 and 40 seconds, debris and smear layer were not successfully removed. The same concentration of citric acid used in duration of 60 seconds effectively removed debris and smear layer from the dentin surface, while dentin structure stayed intact. According to our results, 10% solution of citric acid used in duration of 5 minutes caused strong demineralization of inter- and intratubular dentin.

Optimal concentration of citric acid, for effective removal of smear layer from the dentin surface, is 10%, and optimal time is 60 seconds.

Key words: citric acid, smear layer, time