

Прегледница	18.02.2026				
Ори. број	05	Пројекат	1764	Вредност	

ОЦЕНА МЕНТОРА О ИЗВЕШТАЈУ О ПРОВЕРИ ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСKE
ДИСЕРТАЦИЈЕ ОДНОСНО ДОКТОРСКОГ УМЕТНИЧКОГ ПРОЈЕКТА

НАЗИВ ДИСЕРТАЦИЈЕ	Утицај модификације минерал триоксид агрегата зеолитом-клиноптилолитом на физичкохемијске, антибактеријске карактеристике и рубно заптивање у апексној оптурацији једнокорених зуба		
Кандидат	Стефан С. Величковић		
Ментор:	Проф. др Мирослав Васовић		
Датум пријема потпуног извештаја о провери оригиналности докторске дисертације, односно докторског уметничког пројекта	13.02.2026.		

Овим потврђујем да је наведена докторска дисертација оригинална, тј. да представља резултат оригиналног рада докторанда. Такође, потврђујем да су током рада поштована академска правила цитирања, навођења извора и сл. Подударање текста ове дисертације са другим изворима чини свега 6% укупно. Подударање текста која нису последица цитата, личних имена и библиографских података о коришћеној литератури, односи се на примену исте или сличне методологије коришћене при прикупљању података у оквиру ове докторске дисертације, као и употребе уобичајне терминологије. Овај извештај указује на оригиналност докторске дисертације, те се прописани поступак припреме за одбрану може наставити (позитивна оцена).

Датум

18.02.2026.

ПОТПИС МЕНТОРА



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ

БРОЈ: IV-03-61/1

ДАТУМ: 4.02.2026. ГОДИНЕ

КРАГУЈЕВАЦ

Стефан С. Величковић

**Утицај модификације минерал триоксид
агрегата зеолитом-клиноптилолитом на
физичкохемијске, антибактеријске
карактеристике и рубно заптивање у
апексној оптурацији једнокорених зуба**

докторска дисертација

Крагујевац, 2026



UNIVERZITET U KRAGUJEVCU
FAKULTET MEDICINSKIH NAUKA

Stefan S. Veličković

**Uticaj modifikacije mineral trioksid
agregata zeolitom-klinoptilolitom na
fizičko-hemijske, antibakterijske
karakteristike i rubno zaptivanje u
apeksnoj opturaciji jednokorenih zuba**

doktorska disertacija

Kragujevac, 2026



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Stefan S. Veličković

**Effects of modification of mineral trioxide
aggregate with zeolite-clinoptilolite on
physicochemical, antibacterial
characteristics and and marginal
adaptation in apical obturation of single-
rooted teeth**

Doctoral Dissertation

Kragujevac, 2026

Аутор
Име и презиме: Стефан Величковић
Датум и место рођења: 14.12.1991. Врање
Садашње запослење: Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу
Докторска дисертација
Наслов: Утицај модификације минерал триоксид агрегата зеолитом-клиноптилолитом на физичкохемијске, антибактеријске карактеристике и рубно заптивање у апексној оптурацији једнокорених зуба
Број страница: 89
Број слика: слика 21, фигура 12, табела 20
Број библиографских података: 162
Установа и место где је рад израђен: Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу и лабораторија за материјале Институт за нуклеарне науке „Винча“ Универзитета у Београду
Научна област (УДК): Медицинске науке
Ментор: Проф. др Мирослав Васовић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Орална хирургија
Број и датум одлуке Већа универзитета о прихватању теме докторске дисертације: IV-03-812/24, 14.11.2024.

Autor
Ime i prezime: Stefan Veličković
Datum i mesto rođenja: 14.12.1991. Vranje
Sadašnje zaposlenje: Fakultet medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu
Doktorska disertacija
Naslov: Uticaj modifikacije mineral trioksid agregata zeolitom-klinoptilolitom na fizičko-hemijske, antibakterijske karakteristike i rubno zaptivanje u apeksnoj opturaciji jednokorenih zuba
Broj stranica: 89
Broj slika: slika 21, figura 12, tabela 20
Broj bibliografskih podataka: 162
Ustanova i mesto gde je rad izrađen: Fakultet medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu i laboratorija za materijale Institut za nuklearne nauke „Vinča“ Univerziteta u Beogradu
Naučna oblast (UDK): Medicinske nauke
Mentor: Prof. dr Miroslav Vasović, vandredni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Oralna hirurgija
Broj i datum odluke Veća univerziteta o prihvatanju teme doktorske disertacije: IV-03-812/24, 14.11.2024.

Author
Name and surname: Stefan Veličković
Date and place of birth: 14.14.1991. Vranje
Current employment: Faculty of medical sciences University of Kragujevac
Doctoral Dissertation
Title: Effects of modification of mineral trioxide aggregate with zeolite-clinoptilolite on physicochemical, antibacterial characteristics and marginal adaptation in apical obturation of single-rooted teeth
No. of pages: 89
No. of images: images 21, figures 12, tables 20
No. of bibliographic data: 162
Institution and place of work: Faculty of medical sciences University of Kragujevac and materials laboratory Institute of nuclear sciences „Vinča“ University of Belgrade
Scientific area (UDK): Medical sciences
Mentor: Prof. dr Miroslav Vasović, Associate professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac
Topic Application Date: 25.09.2024
Decision number and date of acceptance of the doctoral dissertation topic: IV-03-812/24, 14.11.2024.

САЖЕТАК

Увод: Хроничне периапикалне лезије су патолошке лезије локализоване у пределу врха корена зуба са авиталном пулпом. У случајевима када ендодонтска терапија не покаже резултате потребно је спровести и периапикалну хируршку терапију. Циљ ове студије био је да се процени утицај модификације минерал триоксид агрегата зеолитом-клиноптилолитом на физичкохемијске и антибактеријске карактеристике, имуномодулаторна својства, биокомпатибилност и рубно заптивање у апексној оптурацији једнокорених зуба.

Материјал и методе: Ово истраживање представља експерименталну студију на узорцима цемента и *in vitro* студију на извађеним једнокореним зубима. Модификација МТА цемента припремљена је додавањем (5% од укупног масеног удела) природног зеолита-клиноптилолита и модификованог зеолита клиноптилолита ZrO_2 или Ag и Zn у прах компоненту МТА.

Резултати: Модификација цемента има утицај на физичкохемијске особине (статички значајна разлика између група $p < 0,001$, $p = 0,001$), антибактеријске карактеристике (група 3 и група 4 су показали најефикасније антимикуробно дејство против *E. faecalis*), имуномодулаторна својства (група 2 смањује концентрацију IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , IL-17) и биокомпатибилност (након 72 сата, група 2 је показала статистички значајно побољшање вијабилности ћелија). Просечне величине микропукотина пукотина нису биле статистички различите $p > 0,05$.

Закључак: Узимајући у обзир његов утицај на физичкохемијске карактеристике и рубно заптивање, као и биокомпатибилност, антибактеријска и имуномодулаторна својства, додавање природног зеолита у МТА представља потенцијал за развој нових материјала за ретроградну оптурацију.

Кључне речи: материјал за ретроградну оптурацију, минерал триоксид агрегат, физичкохемијске особине, *E. faecalis*, биокомпатибилност, имуномодулација, микропурење, зеолит.

ABSTRACT

Introduction: Periapical lesions are pathological lesions localized in the region of the root apex of teeth with non-vital pulp. In cases where endodontic therapy does not yield satisfactory results, periapical surgical treatment is required. The aim of this study was to evaluate the effect of modification of mineral trioxide aggregate with zeolite–clinoptilolite on physicochemical and antibacterial characteristics, immunomodulatory effects, biocompatibility, and marginal adaptation in apical obturation of single-rooted teeth.

Materials and Methods: This research represents an experimental study on cement samples and an *in vitro* study on extracted single-rooted teeth. Modification of MTA cement was prepared by adding 5% (of the total mass fraction) of natural zeolite–clinoptilolite and modified zeolite–clinoptilolite ZrO₂ or Ag and Zn to the powder component of MTA.

Results: Effect of cement modification on physicochemical properties (statistically significant differences between groups, $p < 0.001$, $p = 0.001$), antibacterial characteristics (Groups 3 and 4 demonstrated the most effective antimicrobial activity against *E. faecalis*), immunomodulatory properties (Group 2 reduced the concentrations of IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , and IL-17), and biocompatibility (after 72 hours, Group 2 showed a statistically significant improvement in cell viability). The mean sizes of microleakage were not statistically different ($p > 0.05$).

Conclusion: Considering its influence on physicochemical characteristics and marginal adaptation, as well as biocompatibility, antibacterial, and immunomodulatory properties, the addition of natural zeolite to MTA represents a potential for the development of novel root-end filling material.

Keywords: root-end filling material, mineral trioxide aggregate, physicochemical properties, *E. faecalis*, biocompatibility, immunomodulatory effects, microleakage, zeolite.

САДРЖАЈ

1. УВОД.....	1
1.1 Периапикалне лезије.....	2
1.1.1 Дефиниција, етиологија и патогенеза периапикалних лезија.....	2
1.1.2 Терапија хроничних периапикалних лезија.....	4
1.1.3 Периапикална хирургија.....	6
1.2. Исход периапикалне хирургије.....	9
1.2.1 Фактори од начаја за успех периапикалне хирургије.....	9
1.2.2 Апикално микроцурење.....	12
1.3. Материјали за ретроградну оптурацију.....	14
1.3.1 Развој материјала за ретроградну оптурацију.....	14
1.3.2 Минерал триоксид агрегат.....	16
1.4 Зеолит	22
1.4.1 Примена зеолита у стоматологији.....	25
2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА.....	28
2.1 Циљеви истраживања.....	29
2.2 Хипотезе истраживања.....	29
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ.....	30
3.1 Припрема узорака.....	31
3.2 Анализа компресионе и савојне чврстоће.....	32
3.3 Анализа угла квашења	33
3.4 Анализа времена везивања	34
3.5 Анализа растворљивости.....	35
3.6 Анализа рН вредности.....	36
3.7 Анализа рендгенконтрастности	36
3.8 Анализа антибактеријских својстава	37
3.9 Испитивање биокомпатибилности.....	39
3.10 Процена рубног заптивања.....	40
3.11 Процена имуномодулаторних ефеката - In Vitro.....	43
3.12 Статистичка обрада података.....	43
4. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА.....	45
4.1 Резултати анализе компресионе и савојне чврстоће.....	46
4.2 Резултати анализе угла квашења.....	47
4.3 Резултати анализе времена везивања.....	49
4.4 Резултати анализе растворљивости.....	51
4.5 Резултати анализе рН вредности.....	51
4.6 Резултати анализе рендгенконтрасности.....	54
4.7 Резултати процене антимицробне активности.....	55
4.8 Резултати испитивања биокомпатибилности.....	56
4.9 Резултати процене рубног заптивања.....	57
4.10 Резултати анализе имуномодулаторних ефеката - In Vitro.....	59
5. ДИСКУСИЈА.....	61
6. ЗАКЉУЧЦИ.....	74
7. ЛИТЕРАТУРА.....	77

1. УВОД

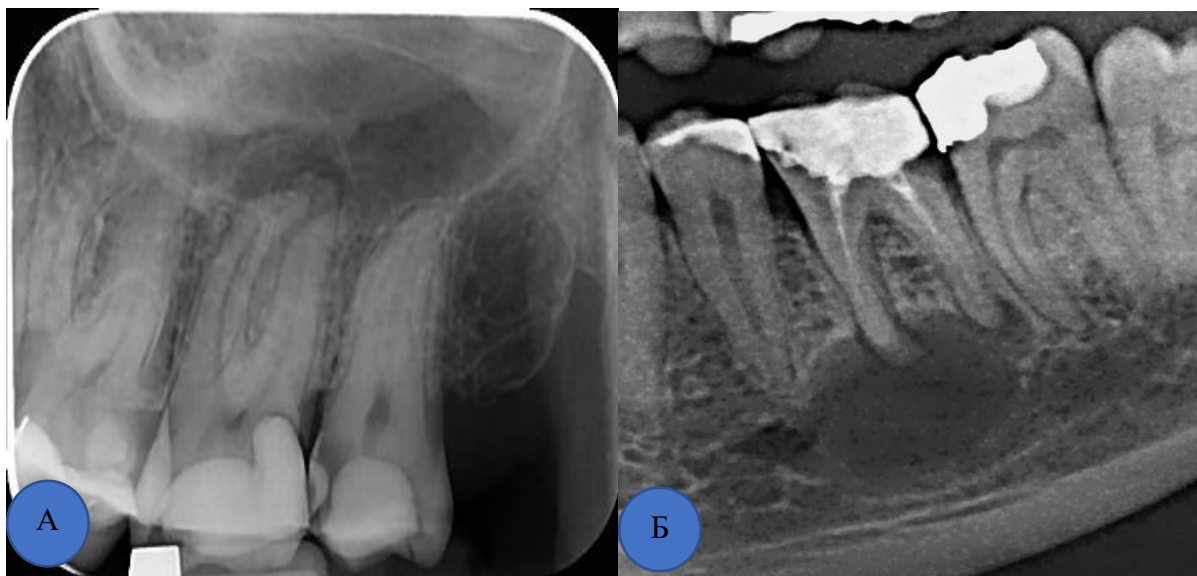
1.1 Периапикалне лезије

1.1.1 Дефиниција, етиологија и патогенеза периапикалних лезија

Периапикално ткиво представља комплексну анатомско-хистолошку јединицу која обухвата апекс корена зуба (прекривен цементом), периодонтални лигамент (богат колагеним влакнима, повезује цемент корена са алвеоларном кости, обезбеђујући механичку стабилност зуба и амортизацију оклузалних сила) и алвеоларно коштаног ткива. Ткиво пулпе и периапикално ткиво су анатомски и функционално повезани, без јасне границе, чинећи јединствен комплекс. Крвни и лимфни судови апикалног региона обезбеђују исхрану и метаболичку размену између пулпе и периапикалних структура, док густо присутна нервна влакна омогућавају ноцицептивну и проприоцептивну функцију. Захваљујући богатом васкуларном и имуноћелијском систему, периапикално ткиво представља кључну баријеру у одговору на инфективне и трауматске агенсе. У физиолошким условима, овај регион одржава динамичку равнотежу између процеса ремоделације кости и функционалних оптерећења. Међутим, у патолошким стањима, као што су некроза пулпе и перзистентне ендодонтске инфекције, периапикално ткиво постаје место интензивне имунолошке и запаљенске реакције. Последица таквих промена може бити ресорпција кости, развој хроничних периапикалних лезија и настанак цистичног ткива (радикуларна циста).

Хроничне периапикалне лезије су патолошке лезије локализоване у пределу врха корена зуба са авиталном пулпом, за чији настанак је неопходно присуство различитих микроорганизама, представљајући баријеру која ограничава микроорганизме и спречава њихово ширење у околна ткива (1). Микроорганизми и њихови продукти имају кључну улогу у настанку и прогресији периапикалних лезија, делујући директно или индиректно (2).

У основи овог стања лежи хронична инфламација праћена ресорпцијом периапикалне кости, због чега је карактеристична радиографска слика, појава расветљења у периапикалном подручју захваћеног зуба. Инфекцију првенствено покрећу липополисахариди, познати и као ендотоксини, који се налазе у ћелијским зидовима грам-негативних бактерија, а који активирају ћелије имунског система (3). У раним фазама инфекције имунске ћелије ослобађају цитокине са циљем елиминације патогена и успостављања хомеостазе ткива. Међутим, уколико инфекција перзистира и пређе у хроничну фазу, долази до промене ткивне микросредине, при чему имунски систем више није у могућности да елиминише узрочнике и омогући репарацију ткива (4). Последично може настати некроза пулпе и периапикална инфламација, што доводи до ресорпције кости и развоја периапикалне лезије. Ресорбоване коштане структуре бивају замењене гранулационим ткивом које у највећем проценту садржи полиморфонуклеарне леукоците (5). Поред гранулационог ткива и ћелија имунског одговора, хроничне периапикалне лезије садрже и фибробласте и од околног ткива су ограничене везивно ткивном каспулом. Радикуларне цисте настатају епителизацијом хроничних периапикалних лезија, односно пролиферацијом епителних ћелија (Маласезових острваца - остаци Хертвигове кошуљице која је била присутна током развоја зуба) под утицајем фактора раста који потичу од ћелија из хроничне периапикалне лезије (Слика 1).



Слика 1. Радиографски приказ хроничне периапикалне лезије горњег другог молара са леве стране (А) и радикуларне цисте доњег првог молара са десне стране (Б). Прецизна класификација периапикалних лезија се може извршити на основу патохистолошке анализе.

Преваленција микроорганизама у периапикалним лезијама износи 87 %, док је преваленција активних микроорганизама у периапикалним лезијама 82 %; Доминантне бактерије су *Actinomyces*, *Cutibacterium*, *Fusobacterium*, *Gemella*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Treponema*, *Veillonella* (2). Molander и сарадници су показали присуство гљивица у каналу корену зуба са хроничним периапикалним лезијама, углавном *Candida albicans* (6). Укупна патогеност микроорганизама је повећана када се налазе у заједницама биофилма, за разлику од појединачних бактеријских ћелија (јер је јачи инфламаторни одговор), док је међузависност у исхрани основни начин који им повећава преживљавање (7).

Према резултатима студије Tibúrcio и сар. учесталост хроничних периапикалних лезија варира у зависности од примене различитих радиографских метода. При употреби ортопантомографије преваленција је износила око 46 %, код ретроалвеоларне радиографије 56 %, док је највећа учесталост забележена применом компјутеризоване томографије конусног зрака (енгл. *Cone Beam Computerized tomography*, СВСТ) и то 70 % (8). Такође, према резултатима ове мета-анализе преваленца хроничних периапикалних лезија код одраслог становништва износи 52 %, што значи да више од половине светске популације има бар један захваћен зуб (8). Одговоране су за приближно три четвртине коштаних промена у вилицы који се манифестију као расветљење на радиограму, и представљају глобални здравствени проблем (9). Учесталост јављања хроничних периапикалних лезија је већа код пушача (10). Пацијенти који су претходно имали ендодонтску терапију такође су имали већу учесталост хроничних периапикалних лезија (8). У студији La Rosa и сар. доказана је потенцијална веза између хроничних периапикалних лезија и инфламаторних болести црева (11). Већина актуелних студија пружа доказе о повезаности хроничних периапикалних лезија са дијабетесом (утиче на осетљивост инсулина, повећава концентрацију глукозе у крви, појачава системске ефекте дијабетеса), остеопорозом (корелацију између остеопорозе и периапикалних лезија код пацијената у постменопаузи), реуматоидним артритисом, аутоимуним нефритисом и хепатитисом и кардиоваскуларним болестима (12).

Поред каријеса и његових компликација, узроци настанка хроничних периапикалних лезија могу бити и оклузална траума, повреде зуба и компромитована ендодонтска терапија. Перзистентна хронична периапикална лезија настаје у случајевима када ендодонтска терапија није у потпуности елиминисала инфекцију канала корена зуба (неадекватна асептична контрола током интервенције, неправилно формиран приступни кавитет, непронађени или занемарени канали, недовољна инструментација канала корена и њихова дезинфекција), компромитована дефинитвна оптурација, као и појава микроцурења код привремених и трајних рестаурација (13).

1.1.2 Терапија хроничних периапикалних лезија

Манифестација хроничних периапикалних лезија може бити различита, од потпуног одсуства евидентних клиничких знакова и симптома (дијагностикују се током рутинског стоматолошког прегледа), до благих симптома праћени болом или неким локланим нелагодностима (осетљивост на перкусију зуба и/или палпаторно осетљив врх корена зуба), или до теже клиничке слике која подразумева коштану деструкцију, губитак зуба и дентогену инфекцију. Стога, правилна и правовремена дијагноза (рутински радиографски прегледи) и адекватно лечење хроничних периапикалних лезија могу спречити настанак тежих клиничких компликација.

Иницијални модалитет у лечењу хроничних периапикалних лезија је ендодонтска терапија зуба узорочника (14). Основи циљ свих ендодонтских процедура (посебно чишћење и обликовање канала корена) је елиминисање некротичног ткива и инфективног садржаја из канала корена (15,16). Студије су показале да ендодонтско лечење зуба са периапикалним лезијама има успешност и до 85 %, док је забележен проценат од чак 94,4 % потпуног или делимичног коштанога зарастања након нехируршке ендодонтске терапије (17). У ретроспективној клиничкој радномизованој студији Al Jallad и сар. стопа успешности ендодонтске терапије била је између 91,5-93,3 %, у оквиру које су поцењивали радиографски и клинички знаци 12 месеци након завршене ендодонтске терапије (18). Систематски преглед и мета-анализа која је обухватила 42 студије показала је збирну стопу успеха ендодонтске терапије од 92,6 % (смањење величине постојеће периапикалне лезија) и 82 % (потпуно нестајање периапикалне лезије) (19).

Успех (исход) ендодонтске терапије дефинише се као одсуство симптома и клиничких знакова болести (као што су мобилност, фистула, ендопародонтални цеп, фрактура) уз очувану функцију, док радиографски периапикални простора треба да буде интактан уз губитак претходног периапикалног расветљења, што указује на коштано зарастање (20). Ендодонтска терапија није увек успешна, тренутна инфекција и хронична периапикална лезија могу да остану или да напредују. Неколико епидемиолошких студија је показало да 33-60 % ендодонтски лечених зуба и даље показује клиничке знакове хроничне периапикалне лезије (21). Најчешћи разлог је присуство микроорганизама који су преживели конвенционално лечење или ушли у периапикални простор микроцурењем. У тим случајевима спроводи се поновно лечење, које може да се изведе на два начина, ортоградно (нехируршки) или ретроградно (хируршки). Хируршко лечење се препоручује када клиничке и радиографске процене указују да ендодонтска терапија није изводљива, када претходни третмани нису успели или када дијагноза сугерише неондонтогено порекло периапикалне лезије (22).

Индикације и контраиндикације за ендодонтску хирургију разликују се према ауторима али се могу сумирати на следећи начин (23):

Индикације за периапикалну хирургију:

1. Перзистентна хронична периапикална лезија након ендодонтског лечења, од 5 mm до 2 cm;
2. Хронична периапикална лезија и друга периапикална патологија која се погоршава након ендодонтског лечења и која је видљива радиографски;
3. Значајна екструзија материјала за obturацију која омета коштано зарастање и изазива симптоме.
4. Приступ ради периапикалне киретаже или биопсије;
5. Приступ ради ретроградне препарације или obturације;
6. У случајевима када апикални део зуба са хроничном периапикалном лезијом и другом периапикалном патологијом није могуће очистити, обликовати и obturирати;
7. Анатомске аномалије које онемогућавају нехируршко лечење: јако закривљени канали, интраканалне калцификације, спољашња и унутрашња ресорпција корена, апикалне перфорације које ометају зарастање, зуби са недовољно развијеним кореном где апексификација није успела;
8. У случајевима неуспеха традиционалне апикотомије када се зуб може сачувати;
9. Трауматске лезије корена које се односе на преломе у апикалној трећини;
10. Потешкоће у лечењу: зуби са надоградњом где би уклањање довело до прелома, немогућност уклањања материјала за obturацију или сломљеног инструмента у апикалној трећини, перфорације пода коморе, лажни канали или проширења апикалног форамена, непотпуна ендодонтска терапија након исцрпљених могућности нехируршког лечења, неуспела периапикална хирургија и други ендодонтски неуспеси;

Контраиндикације за периапикалну хирургију:

1. Хронична периапикална лезија зуба чији се канал може очистити и обликовати;
2. Зуб који се не може функционално сачувати или обновити;
3. Некооперативан пацијент;
4. Акутна инфламација у оперативном пољу;
5. Инфициран суседни зуб који није лечен;
6. Узнапредовао губитак кости који онемогућава очување зуба након ресекције;
7. Системска обољења која прво морају бити под контролом;
8. Недостатак видљивости и приступа;
9. Пацијенти са системским болестима код којих је хируршка интервенција контраиндикована;

1.1.3 Периапикална хирургија

Периапикална хирургија (апикотомија) је стоматолошка хируршка процедура са дугом традицијом, која је почела да се примењује крајем 19. века са циљем да се уклоне

некротични делови врха корена зуба и оболелела периапикална ткива, без већег придавања пажње на присуство интраканалне инфекције (24). Прва званична спомињања периапикалне хирургије потичу још из 1884. године и то као хирургија корена, везана је за Дžона Фага који је дао препоруке за ресекцију врха корена (или потпуну ресекцију корена), који је говорио да је то смела интервенција која уклања узрок и која ће довести до трајног излечења (25). Ова хируршка техника се брзо развијала, као и њена примена, тако да је постала терапија избора након неуспешне ендодонтске терапије. Било је много критичара на пребрзи развој ове хируршке процедуре, заговарали су минимизирање употреба хирургије и посвећивање пажње лечењу канала корена зуба, односно интраканалној инфекцији (25).

Значајне године у развоју савремене периапикалне хирургије биле су најпре 1943. године када је основана Америчка асоцијација ендодонтиста (енгл. *American Association of Endodontists*) и 1958. година када је почео да се примењује амалгам за ретрооптурацију (26). Касније је ова област знатно унапређена и то 1960. године када је у употребу ушао дигитални оптички микроскоп и 1993. године када Mahmoud Torabinejad открио и увео у употребу минерал триоксид агрегат (енгл. *Mineral trioxide aggregate*, МТА) (26). Данас, периапикална хирургија је стандардна орално хируршка интервенција, која подразумева пресецање врха корена зуба уз ретроградну препарацију и оптурацију канала корена и уклањање других ткива периапикалног простора, како би се сачувао зуб. Основни циљ ове интервенције је визуализација врха корена зуба и периапикалног ткива, затим пресецање врха корена зуба и његова обрада (ретропрепарација) како би се остварило херметичко заптивање и на тај начин спречило да интраканална инфекција продре у периапикално ткиво.

Периапикална хирургија је микрохируршка техника која укључује употребу микрохируршких инструмената и увеличања ради минимализације хируршке трауме и стварање адекватних услова за ретроградну препарацију и оптурацију (27). Такође, употреба микроскопа сматра се неизоставним делом у периапикалној хирургији, који даје прецизно и увеличано хируршко поље а самим тим утиче на квалитет и дуготрајност периапикалне хирургије и омогућува ергономски положај приликом рада (27).

Основни принципи ради у периапикалној хирургији подразумевају (28,29):

1. Анестезирање оперативног поља: применом техника терминалне или спроводне анестезије постиже се адекватна контрола бола, док вазоконстриктор из локалног анестетичког раствора олакшава хемостазу и самим тим повећава видљивост оперативног поља;

2. Дизајн и подизање мукопериосталног режња пуне дебљине: дизајн мукопериосталног режња одређује се на основу клиничких и радиографских показатеља локализације и величине хроничне периапикалне лезије, естетских захтева пацијента, биотипа и ширине припојне гингиве, као и од протетског рада; мукопериостални режањ мора да има адекватну исхрану (база шира од врха режња) и да се у току рада адекватно манипулише са њим како би се обезбедило примарно зарастање; подизање мукопериосталног режња има за циљ да експонира кост у пределу врха корена зуба и околног периапикалног ткива;

3. Уклањање кортикалног дела кости ради приступа и визуализације врха

корена: Хируршки приступ врху корена зуба спроводи се уклањањем кортикалног дела кости уз помоћ ротирајућих инструмената (округлим карбидним борерима различитих облика и величине) и пиезоелектричним уређајима који обезбеђују мању коштану трауму (Слика 2);

4. Одстрањивање патолошки измењеног периапикалног ткива: Киретжа патолошки измењеног периапикалног ткива обавља се специјално дизајнираним микрохируршким киретима, који треба да адекватно уклоне измењено патолошко ткиво од околне кости и врха корена зуба;

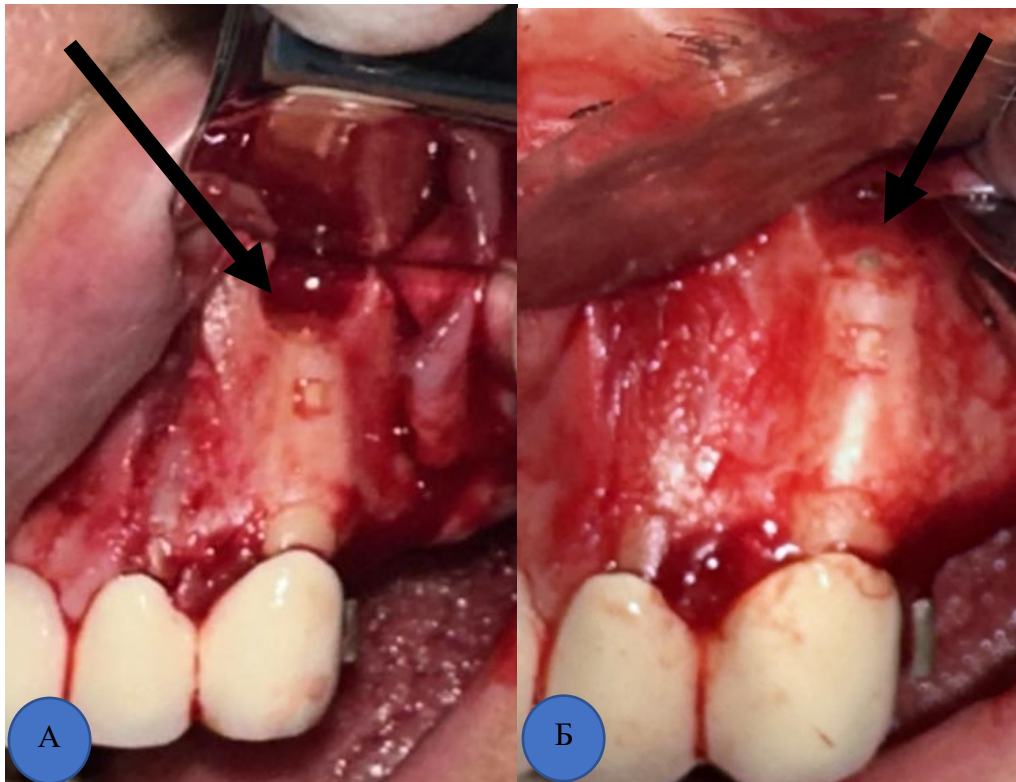


Слика 2. Интраоперативни приказ врха корена зуба горњег очњака са леве стране, након уклањања кортикалног дела кости и киретаже хроничне периапикалне лезије.

5. Пресење врха корена зуба: Поступак пресецања врха корена зуба обавља се под правим углом у односу на уздужну осовину врха корена зуба; обично се пресеца 2-3 mm врха корена ради елиминације апикалне делте (како би се уклонили заостали микроорганизми у главним и помоћним коренским системима) и формирање адекватног приступа каналу корена зуба ради правилне механичке инструментације (ретроперарације); код рецидива дужина пресеченог врха се одређује индивидуално (Слика 3);

6. Ретропрепарација са ретроградном оптурацијом: кључан корак у периапикалној хирургији је инспекција врха корена зуба ради уочавања могућих места микроцурења (додатни канали, истмус, пукотине у дентину, празнине између испуна и зидова канала корена), након тога следи индетификација гутаперке, препарација врха корена зуба до дубине 2-3 mm специјално дизајнираним ултразвучним наставцима и ретроградна оптурација испрепарисаног дела врха корена зуба; Ултразвучном препарацијом се постиже адекватно чишћење (уклања се меко и тврдо ткиво из канала корена и материјал за пуњењење) и обликовање канала корена зуба за апликацију материјала за ретроградну оптурацију. Препарација прати аксијалну осовину корена зуба, смањујући могућност за фактуру корена зуба и евентуално перфорацију. Испрепарисани кавитет корена зуба се ретроградно оптурира како би се

херметички затворио и спречило цурење ткивне течности из периапексног ткива у канал корена зуба и поновно насеђавање бактерија у периапикални простор која узрокују рецидив и појаву симптома. На овај начин се постиже боље рубно заптивање канала корена зуба, прави се квалитетнија баријера између зуба узрочника и околног пероапикалног ткива. Ретроградно пуњење, такође, треба да омогући регенерацију цемента и перидонталног лигамента на рецесирану површину врха корена зуба (Слика 4)(27).



Слика 3. Интраоперативни приказ ресекције врха са ретрооптурацијом горњег очњака са леве стране; на слици са леве стране (А) се види ресициран врх корена зуба где је индетификована гутаперка и улаз у канал корена; на слици са десне стране (Б) уочава се апликован материјал за ретроградну оптурацију (МТА).

7. Ушивање мукоперисоталног режња и примена медикаментозне терапије;

8. Контролни прегледи након хируршке интервенције: 5-7 дана ради праћења зарастања меког ткива и уклањање конача; 6-12 месеци ради праћења коштаног зарастања и регенерације цемента и перидонталног лигамента;

Примарна опција за лечење хроничних периапикалних лезија и ендодонских лечених зуба који имају клиничку манифестацију са или без видљивих радиографских манифестација је конзервативни ендодонтски третман. Периапикалну хирургију треба примењивати у складу са индикацијама, односно у случајевима када је корист од лечења много већи од потенцијалних компликација у току и након хируршке процедуре.

1.2. Исход периапикалне хирургије

1.2.1 Фактори од значаја за успех периапикалне хирургије

Успех периапикалне хирургије последњих година значајно се повећао захваљујући развоју нових материјала за ретрооптурацију, коришћењу микрохирушки инструмената, увођењу лупа и микроскопа и употреби инструмената за ултразвучну препарацију. Развој нових материјала и употреба савремених микрохирушких инструмената повећава успешност и предвидљивост периапикалне хирургије. Ранија стопа успеха од 60 % до 70 % сада се повећала на више од 90 % (91,5 % излечених случајева након периода праћења од 5 до 7 година; када је дошло или до ожиљног зарастања или до репарације ламине дуре) (29). Други аутори истичу да се стопа успеха периапикалне хирургије креће у распону од 37 % до 91 %, док је комплетно зарастање периапикалног ткива примећено од 37 % до 96 % након периапикалне хирургије претходно ендодонтски третираних зуба (21). Петогодишња лонгитудинална студија Gagliani и сар. показала је ниску стопу успеха од 59 % код реоперације у поређењу са високом стопом успеха од 86 % код првих хируршких интервенција (30). Савремена периапикална хирургија у поређењу са традиционалном периапикалном хирургијом која укључује ротирајуће инструменте и веће оперативно поље има пет пута већу стопу успеха (23).

Успешност лечења периапикалне хирургије треба процењивати клинички и радиографски. У свакодневном клиничком раду, периодична радиографска анализа и праћење знакова и симптома болести након оперативног захвата је од кључне важности како би се одредио исход периапикалне хирургије (27). Ретроградна оптрудија игра кључну улогу у обезбеђивању ефикасне апикалне баријере и сматра се да је то најчешћи узрок неуспеха јер обезбеђује поновни пут између канала корена зуба и периапикалног ткива (31). Други разлози за неуспех периапикалне хирургије и потенцијалну комуникацију између канала корена зуба и периапикалног ткива могу бити: фрактура корена, присуство истмуса, апексо-маргиналана комуникација (постојала или настала након хируршке интервенције), присуство помоћних и латералних канала, перфорације у дентину, пукотине у дентину, као и пукотина између материјала за оптурацију канала корена и зида канала корена (28).

Клинички аспект успеха периапикалне хирургије се заснива на одсуству знакова и симптома као што је:

- 1) бол и остале нелагосности субјективног карактера;
- 2) осетљивост на палпацију или перкусију;
- 3) одсуство фистуле;
- 4) одсуство отока;
- 5) адекватно зарастање меких ткива;
- 6) очувана функција зуба и смањена покретљивост;

Радиографски аспект успеха периапикалне хирургије се заснива на присисуству интезитета коштаног расветљења и интезитета коштаног зарастања (21):

- 1) потпуно зарастање (у потпуности дефект бива испуњен коштаном ткивом);

- 2) непотпуно зарастање („формирање ожиљног ткива“– везивно ткиво које налаже на коштаном ткиву, може да продре у хируршки дефект и да доведе до непотпуног коштаног зарастања);
- 3) несигурно зарастање (делимично пристуно расветљење након хируршке интервенције);
- 4) незадовољавајуће зарастање (без промена или повећање расветљења након хируршке интервенције);

Случајеви класификовани као успешни не морају се радиографски пратити на годишњим контролама, осим ако нису присутни клинички знаци или симптоми (27). Насупрот томе, други аутори препоручују да се клинички и радиографски прегледи обављају 3, 6, 12 и 24 месеца након операције (31). Случајеви са непотпуним, несигурним или незадовољавајућим радиографским зарастањем треба да се поново процене клинички и радиографски (обично у годишњим интервалима) док се не постави коначна дијагноза (27). Неуспех периапикалне хирургије се дефинише као несигурно или незадовољавајуће радиографско зарастање (смањење или одсуство смањења лезије), односно присуство клиничких знакова и симптома (24). Већина промена у зарастању дешава се у првој години, а случајеве са несигурним исходом треба пратити до четири године (24).

Истраживања показују да на исход периапикалне хирургије утичу и други фактори, као што су старост пацијента, врста и положај зуба, величина и природа лезије, као и карактеристике самог третмана. Студија Mireia Serrano-Giménez и сар. је показала да млађи пацијенти (≤ 45 година), зуби у предњем горњем сегменту, мање и нецистичне лезије, као и адекватно пуњење корена и употреба МТА значајно повећавају успешност периапикалне хирургије (Табела 1) (32).

Категорија	Позитивни прогностички фактори
Пацијент	Старост ≤ 45 година
Фактори везани за зубе	Горњи фронтални зуби (секутићи) или премолари Лезија ≤ 10 mm Нецистичне лезије Без преоперативних симптома и знакова Без оштећења потпорног апарата зуба
Фактори везани за третман	Адекватна дужина оптурације канала корена МТА као материјал за ретроградно пуњење Апикална ресекција < 3 mm Зуб није у вези са ороантралном фистулом Само једна периапикална хирургија (прва операција)

Табела 1. Преглед прогностичких фактора који утичу на бољи исход периапикалне хирургије.

Студија Adeel Ahmed и сар. указује да на исход периапикалне хирургије поред величине лезије и старости пацијента, пуњење игра значајну улогу (33). Наиме, пуњење омета зарастање периапикалног ткива јер ограничава доток оксигенисане крви

и хранљивих материја у периапикално подручје што чини ткиво подложнијим бактеријској инфекцији (33). Такође, смањује синтезу колагена, убрзава ресорпцију костију, омета процес репарације ткива у периапикалном подручју (34).

Данашње савремене микрохирушке технике периапикалне хирургије, уз адекватан избор случајева и планирање, показују велику успешност и предвидивост. Стопа успешности после више од 6 година од примене периапикалне хирургије износи 93,3% (35). Неуспешни случајеви најчешће су били последица фрактуре корена или грешке оператера (недостајућа ретроградна оптурација, лоша припрема врха корена, непронађени канали или неисправно затворени истмуси) (24).

Kim и сар. су увели микрохирушку класификацију лезија: „Праве ендодонтске лезије“ су класе А, Б, Ц, док су пародонтолошко компромитовани зуби класе Д, Е, Ф (Табела 2) (36).

Класа	Опис лезије	Тип лезије	Стопа успеха
А	Присутни упорни симптоми након неуспеха нехируршких метода, али без радиографски видљиве лезије	Права ендодонтска	≈ 95,2 %
Б	Мала периапикална лезија са симптомима	Права ендодонтска	≈ 95,2 %
Ц	Велика лезија која се шири коронарно, али без пародонталних џепова	Права ендодонтска	≈ 95,2 %
Д	Као класа Ц, али са дубоким пародонталним џеповима	Ендодонтско-пародонтална лезија	≈ 77,5 %
Е	Периапикална лезија са ендодонтско-пародонталном комуникацијом	Ендодонтско-пародонтална лезија	≈ 77,5 %
Ф	Периапикална лезија уз потпуни губитак букалне ламеле	Ендодонтско-пародонтална лезија	Најлошији исходи, често < 77,5 %

Табела 2. Класа А–Ц (праве ендодонтске лезије) имају знатно бољи исход лечења (≈ 95 %), док су класе Д–Ф (ендодонтско-пародонталне лезије, пародонтално компромитовани зуби) повезане са нижим стопама успеха (≈ 77,5 %), посебно у случајевима губитка букалне ламеле и дубоких пародонталних џепова.

Многи фактори утичу на извођење периапикалне хирургије и све их треба узети у обзир како би се постигли предвидиви резултати. Иако клиничар може да контролише факторе везане за третман (избор одређене технике), фактори везани за пацијента и сам зуб углавном су ван домета хирурга. Такође, и ови фактори морају се узети у обзир као важни прогностички детерминанти при планирању периапикалне хирургије или разматрању алтернативних третмана. Зуби који нису имали бол или друге симптоме пре операције, који су имали добро пуњење канала корена и чије су периапикалне

лезије биле мале (до 5 mm или их није било), имају већу вероватноћу за излечење и успех периапикалне хирургије (37).

1.2.2 Апикално микроцурење

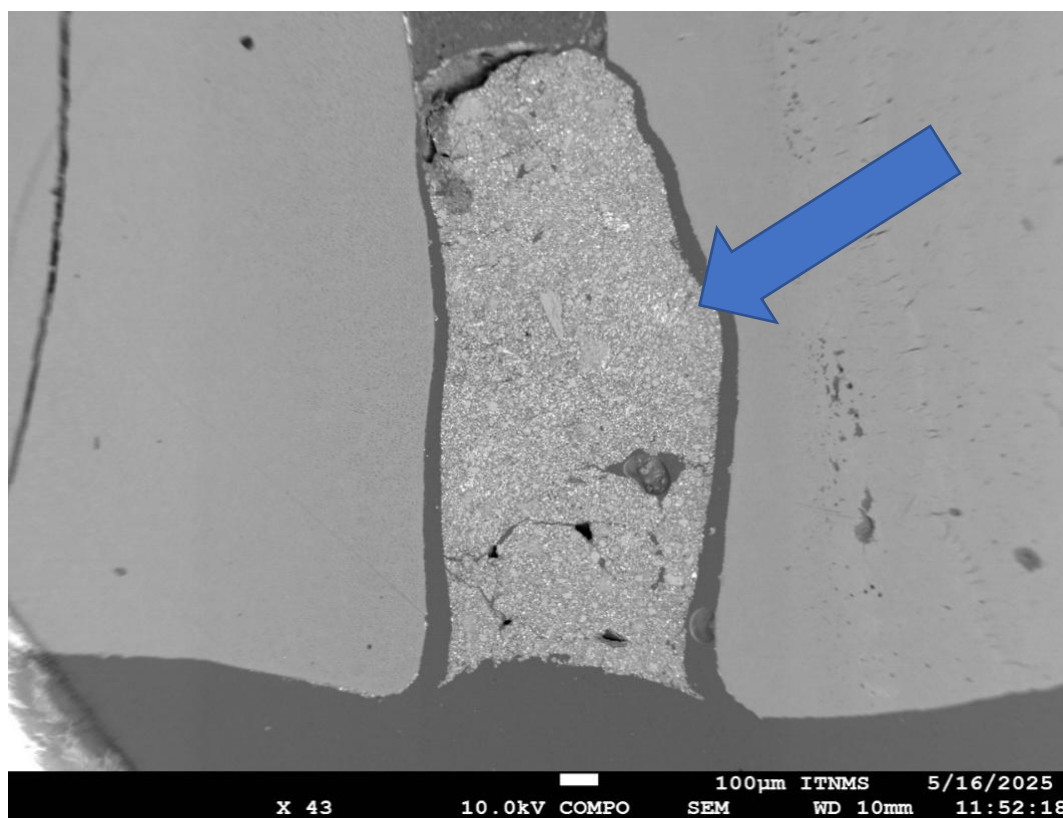
Неуспех периапикалне хирургије може се приписати бројним узроцима, али се мироцурење које се јавља између материјала за ретроградну оптурацију и зида канала корена, сматра главним фактором. Потенцијално, постоје два пута кроз која може доћи до цурења на врху корена ресецираног и ретроградно оптурираног зуба. У првом случају је апикална микропукотина (Слика 4) (цурење дуж споја између материјала за ретроградну оптурацију и дентиског зида канала корена) док у другом случају се то одвија преко отворених апикалних тубула дентина (дуж отворених тубула на ресецираном крају корена) (38,39). Некротични остаци, микроорганизми и њихови продукти не могу се у потпуности елиминисати из препарисаног канала корена; ако каналски простор није адекватно затворен, сами микроорганизми, или њихови токсини, могу изазвати запаљење периапикалног ткива и појаву неуспеха периапикалне хирургије (40). Код конвенционалних техника периапикалне хирургије (укључује употребу колењака са микроглавом и малим округлим борером) ресекција врха корена се врши под углом од 45° или 30° степени ради лакше визуализације и приступа, док код савремених техника (укључује употребу средства за увећање и ултразвучне наставке за ретроградну препарацију) препоручује се да угао ресекције буде 0° до 10° степени, што знатно смањује број експонираних дентинских тубула (38,41). На основу броја експонираних дентинских тубула који повезују ресецирану површину корена са каналом, препоручено је да се угао нагиба ресекције сведе на минимум и да се ретроградни испун продужи коронарно до нивоа коронарног краја нагиба, како би се смањило цурење кроз апикалне дентинске тубуле (38). Студија Elka Radeva и сар. је показала да је апикална препарација са конкавним обликом и шупљином дуж коренског канала у дубини од 3 mm након апикалне ресекције важна за смањење апикалног микроцурења (41).

Апикално микроцурење и даље је тема интересовања, јер упркос напретку периапикалне хирургије, клинички неуспех и даље постоји. Неодговарајуће маргинално заптивање ретрокавитета може омогућити кретање преживелих микроорганизама и њихових продуката између канала зуба и периапикалног ткива, што доводи до клиничког неуспеха лечења (рецидив инфекције) и појаву апикалног пародонтитиса. Ткивна течност из периапикалног простора дифундује у канал корена зуба кроз апикалну микропукотину и обезбеђује хранљиве материје за преживеле микроорганизме, омогућавајући на тај начин путу метаболичку активност и патогеност.

Узроци апикалног микроцурења:

1. Лоша маргинална адаптација: Неадекватна припрема канала корена зуба (ретроперација недовољне дужине - минимално 3 mm) и недовољна апликација материјала за ретроградну оптурацију;
2. Превелик број отворених дентинских тубула: Смањењем угла пресецања врха корена зуба, (идеално 0°, чува дужину корена и открива мањи број дентинских тубула) смањује се број експонираних дентинских тубула у апикалној трећини корена зуба;

3. Својства материјала: Избор материјала са адекватним физичкохемијским својствима и адхезијом за дентин, доприносе бољој маргиналној адаптацији и спречавању микроцурења;



Слика 4. Попречни пресек ретроградно оптурисаног канала корена зуба на коме се види апикална микропукотина (плава стрелица) између зидова дентина канала корена и материјала за ретроградну оптурацију.

Студија Manisha Nepal и сар. говори да су материјали за ретроградну оптурацију кључни за микроцурење у односу на хируршку технику која се користи у препарацији врха корена зуба. Наиме МТА и Биодентин (енгл. *Biodentine*, *Septodont*, Париз, Француска) су показали мање микроцурење у односу на гласјономер цемент, без обзира на то да ли је препарација врха корена зуба била округлим карбидним или дијаматским борером (42). Kapat и сар. наводе да су својства материјала за ретроградну оптурацију рецесираног врха корена зуба кључни за успех периапикалне хирургије (43). Такође, Pragna и сар. наводе да нема статистички значајне разлике у микроцурењу између начина препрације ретргоградног кавитета, док је МТА показао мање микроцурење у порођењу са Биодентином и гласјономер цементом (44).

Микроцурење након периапикалне хирургије се не може клинички проценети, његова евалуација се врши тестирањем *in Vitro* уз помоћ тестова који подразумевају продор боја, филтрације течности и бактерија, радиоизотопска метода, електрохемијска метода, скенирајућа електронска микроскопија (енгл. *Scanning Electron Microscope*, SEM), трансмисиона електронска микроскопија и микро компјутерска томографија. Иако нема клиничку евалуацију и дијагностику он је је кључни показатељ ефикасности поступка, у супротном губи се херметичко заптивање на врху корена зуба и омогућује се продор оралних и ткивних течности и микроорганизама. Микропукотина може бити довољне величине за пролазак бактерија и тада говоримо о микроцурењу на нивоу

микрона, међутим микроцурење може бити и на субмикронском нивоу када микропукотина дозвољава пролаз само јона и молекула (45).

1.3. Материјали за ретроградну оптурацију

1.3.1 Развој материјала за ретроградну оптурацију

Први значајан научни траг о примени материјала за ретроградну оптурацију потиче из 1939. године, када је др Kastenfeld из Стокхолма (Шведска) објавио дискусију на тему ретроградне оптурације у терапији хроничних периапикалних процеса. Фокусирао се је на резидуалну инфекцију као главни неуспех у хируршкој терапији и дао препоруку за ретроградну оптурацију сребрним амалгамом (25). Ретроградна препарација са ретроградном оптурацијом је прекретница у периапикалној хирургији, јер је проценат излечења порастао на преко 90%, што ову хируршку технику чини предвидивом процедуром. Основни циљ и кључни корак у периапикалној хирургији је ретроградна оптурација која херметички затвара врх корена зуба, стварајући баријеру између канала корена и периапикалног ткива, смањујући могућност продирања бактерија из коренског канала у периапикално ткиво. Велики број клиничких студија је потврдио значај ретроградне оптурације за успех периапикалне хирургије. Данас је на тржишту доступан велики број материјала за ретроградно затваравање канала корена зуба (амалгам, цемент на бази цинк оксида еугенола ојачан бензоевом киселином, гласјономер цементи, композити материјали, МТА, трикалцијум силиктани цементи и биокерамички материјали). Најширу примену дуги низ година имао је амалгам, док се данас све више употребљавају биоактивни материјали као што су МТА, трикалцијум силиктани цементи и биокерамички материјали.

Амалгам је најпопуларнији и најшире коришћени материјал за ретроградну оптурацију, критикован је због недостатка биокомпатибилности (произилази из садржаја живе у смеси легуре метала), корозије, ризика од стварања пукотина на врху корена, бојења тврдог и меког ткива услед ослобађања соли сребра, лоше прогнозе, изразитог микроцурења, изазивања неповољне инфламаторне реакције периапикалног ткива (24). Гласјономер цементи и композити у комбинацији са дентин адхезивним средствима биле су прва алтернатива амалгаму, међутим, иако су имали добро рубно заптивање сама техника рада и везивање били су изузетно осетљиви на влагу (28). Цинк оксид еугенол цементи и његове модификације су дале боље резултате од амалгама. Иако су биокомпатибилнији од немодификованог цинк оксид еугенол цемента, хистолошке анализе су показале присуство запаљенских ћелија на површини корена зуба при употреби модификованих цинк оксид еугенол цемента (24).

У протеклих 45 година коришћено је мноштво материјала за ретроградну оптурацију канала корена са значајним смањењем употребе амалгама, спорадичном употребом модификованих смола везујућих за дентин, континуираном употребом IRM (интермедијарни рестауративни материјал, енгл. *Intermediate restorative material*, ојачан додатком полиметилметилакрилата) и Super-EBA (енгл. *Ethoxy Benzoic Acid*, модификована делимичном заменом еугенола са бензоевом киселином у течной компоненти и додатком фузионисаног кварца или алуминијум-оксида), и тренутним

заговарањем МТА и биокерамике (46). Нови материјали у великој мери спречавају микроцурење, што је и главни неуспех материјала за ретроградну оптурацију (47).

МТА представља моћан материјал у периапикалној хирургији, иницијално развијен на бази Портланд цемента, који је утицао на промену оперативне технике и повећао успешност терапије. Портланд цемент је први пут коришћен у стоматолошкој литератури 1878. године од стране др Witte, који је објавио приказ случаја о употреби овог материјала за оптурацију канала корена. Проналазачи МТА су др Mahmoud Torabinejad и његов сарадник Dean White на универзитету Лома Линда из Калифорније (енгл. *Loma Linda University of California*) због чега си добили и два патентна права од стране Америчког завода за патенте (енгл. *U.S. Patent Office*). МТА је први пут објављен у литератури 1993. године, док је 1998. године одобрен је од стране Америчке агенције за храну и лекове (енгл. *Food and Drug Administration, FDA*). Исте године *Dentsply Tulsa Dental* из Џонсон Ситија (Тексас, Сједињене америчке државе) комерцијализовала је МТА под називом *ProRoot MTA*. МТА цемента су били црне или сиве боје све до 2002. године, када је представљен МТА у белој боји (48). Од свих материјала који се користе за ретроградну оптурацију, најчешће се препоручује МТА због низа позитивних особина који се приписују његовој биоактивности, биокompatibilности и остеокондуктиваном потенцијалу (49).

Идеално, материјал за ретроградну оптурацију треба да поседује следеће особине:

- 1) Рендген контрастност;
- 2) Регенерација ткива без активације запаљенских ћелија (стимулација цементогенезе);
- 3) Отпорност на корозију;
- 4) Електрохемијски стабилан;
- 5) Биокompatibilност са периапикалним ткивима;
- 6) Антимикробна својства;
- 7) Отпоран на растварање (минимална растворљивост);
- 8) Не сме да пребојава зуб и околна коштана и мека ткива;
- 9) Лак за руковање;
- 10) Ниска цитотоксичност;
- 11) Дуго радно време;
- 12) Брзо време везивања;
- 13) Добро маргинално заптивање и адхезија за коренски дентин;
- 14) Отпорност на компресију;
- 15) Димензионално стабилан;
- 16) Биоактиван;
- 17) Биомиметичка својства у статичким и функционалним условима (50,51).

Периапикална хирургија значајно се променила последњих година, уз значајан напредак у оперативној техници и материјалима. Традиционални приступ је претрпео различите измене услед пораста захтева пацијената за очувањем зуба и напретка у науци о материјалима.

Са клиничке тачке гледишта добро рубно заптивање ретроградно испрепарисаног кавитета директно је пропорционално бактеријској инфилтрацији и сходно томе, контаминацији периапикалних ткива. Због тога материјали за ретроградну оптурацију морају имати ниску порозност како би се смањила бактеријска

пропустљивост, и високу хидрофилност како би позитивно утицала на способност заптивања и продора материјала у дентинске тубуле (52). И поред великог броја доступних материјала за ретроградну оптурацију ниједан не задовољава критеријума идеалног материјала.

1.3.2 Минерал триоксид агрегат

МТА је биоактивни материјал на бази калцијум силиката (дикалцијум силикатни цемент) у облику праха који се је иницијално састојао од Портланд цемента (75 %), бизмут оксида (20 %) и калцијум сулфата дихидрата или гипса (5 %) (48,53). У масеном односу, МТА је састављен од 50–75 % калцијум оксида (CaO) и 15–25 % силицијум диоксида (SiO₂) што чини 70–95 % цемента (48,53). Такође, Америчко друштво за испитивање материјала (енгл. *American Society for Testing and Materials*) је МТА цемент класификовала као Портланд цемент типа 1 у комбинацији са бизмут оксидом у односу 1:4 (као рендген контрастно средство) и са финоћом 4500-4600 cm²/g (54). Назив агрегат у називу МТА односи се на додавање радио контрастног средства у Портланд цемент, слично као што се у индустрији бетона додају песак и шљунак.

МТА је доступан у две различите боје, у белој и сивој (Табела 3) (55). Портланд цемент који представља основу МТА је мешавина трикалцијум силиката (CaO)₃SiO₂, дикалцијум силиката (CaO)₂SiO₂, трикалцијум алумината (CaO)₃Al₂O₃ (у мањој количини заступљена у белом МТА), тетракалцијум алуминоферита (CaO)₄Al₂O₃Fe₂O₃ (присутан у сивом МТА) и трикалцијум-алумината Ca₃Al₂O₆ (53,55). У Портланд цементу трикалцијум-силикат и дикалцијум-силикат су најзаступљенији и процењује се да чине отприлике 75–80 %, док су трикалцијум-алуминат и тетра-калцијум-алуминоферит заступљени са око 10 % (53). Боја МТА зависи од концентрације FeO (од њега потиче сива боја), MgO (од њега потиче бела боја) и Al₂O₃; одсуство FeO у белом МТА узрокује промену боје из сиве у белу (55). У прво синтетисаним МТА цементима бизмут оксид (део бизмут-оксида се уграђује у структуру калцијум силикат хидрата, смањује његову компресивну чврстоћу и повећава порозност) се је додавао као радио контрастно средство, док се гипс (утиче на реакције трикалцијум алумината) додавао како би променио време везивања цемента (53)

Карактеристике	Сиви МТА	Бели МТА
Величина честица	Садржи честице веће величине	Садржи мање честице са ужом расподелом величина
Време везивања	Дуже време везивања	Краће време везивања
Компресиона чврстоћа	Већа компресиона чврстоћа	Мања компресивна чврстоћа

Табела 3. У табели су приказане основне разлике у физичким карактеристикама између белог и сивог МТА цемента.

На основу СЕМ-а и микроанализе уочене су још неке разлике у саставу белог и сивог МТА (Табела 4), али без обзира на то показују сличну биокомпатибилност (56).

Хемијско једињење	Бели МТА (% масе)	Сиви МТА (% масе)
Калцијум-оксид (CaO)	44,23	40,45
Силицијум-диоксид (SiO ₂)	21,20	17,00
Бизмут-триоксид (Bi ₂ O ₃)	16,13	15,90
Угљена киселина (H ₂ O + CO ₂)	14,49	13,72
Алуминијум-оксид (Al ₂ O ₃)	1,92	4,26
Магнезијум-оксид (MgO)	1,35	3,10
Сумпор-триоксид (SO ₃)	0,53	0,51
Хлор (Cl)	0,43	0,43
Гвожђе-дваоксид (FeO)	0,40	4,39
Фосфор-петоксид (P ₂ O ₅)	0,21	0,18

Табела 4. У табели приказан састав у процентима код белог и сивог МТА.

МТА припада групи хидрауличних материјала, чије се везивање остварује у присуству влаге (везивање није ометено присуством крви или неке друге ткивне течности, и без угрожавања квалитета материјала након везивања), где долази до реакције хидратације (Табела 5) између трикалцијум-силиката, дикалцијум-силиката и воде, при чему се ствара калцијум хидроксид и калцијум силикатно хидратни гел док слободни калцијумови јони дифундују кроз дентинске тубуле (концентрација им се повећава током времена везивања материјала) (48,57).

$2(3\text{CaO}\cdot\text{SiO}_2)+6\text{H}_2\text{O} \rightarrow 3\text{CaO}\cdot 2\text{SiO}_2\cdot 3\text{H}_2\text{O} + 3\text{Ca}(\text{OH})_2,$
$2(2\text{CaO}\cdot\text{SiO}_2)+4\text{H}_2\text{O} \rightarrow 3\text{CaO}\cdot 2\text{SiO}_2\cdot 3\text{H}_2\text{O} + \text{Ca}(\text{OH})_2,$
$3\text{CaO}\cdot\text{Al}_2\text{O}_3 + \text{CaSO}_4 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 3\text{CaO}\cdot\text{Al}_2\text{O}_3\cdot 3\text{CaSO}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O}.$

Табела 5. Меша се са стерилном дестилованом водом према упутству произвођача, након чега долази до хидратације честица цемента и настанка калцијум силиката, калцијум силикатно хидратног гела, еtringита и моносулфата.

Једна од најважнијих особина МТА је висока биокомпатибилност, која изазива слаб инфламаторни одговор, обезбеђује оптималне услове за зарастање, позитивно утиче на одонтогенезу (формира дентински мост) и цементагенезу (формира цемент) (58,59). Бројне студије су показале да МТА стимулише експресију алкалне фосфатазе, која игра кључну улогу у цементагенези и формирању цемента на површини рецесираног корена, што је суштински услов за затварање перфорације и регенерацију оштећеног ткива (60). Индукује раст периодонталног лигаментa и утиче на стварање апатита у коштаном ткиву, па се због тога класификује и као остеокондуктивни

материјал (61). МТА повећава активност $IL-1\alpha$ (енгл. *Interleukin*) и $IL-1\beta$ који активирају остеокласте и синтезу новог коштаног ткива, и $IL-6$ и $IL-8$ који индукују ресорпцију костију и подстичу развој нових крвних судова (55). Током реакције хидратације ствара се алкална средина са рН (енгл. *Potential of hydrogen*, мера концентрације водоникових јона) око 12, високи рН доводи до некрозе у непосредном подручју где је МТА постављен, што омогућава миграцију ћелија за регенерацију и формирање новог ткива (62). Способност регенерације ткива потиче од калцијумових и хидроксилних јона који формирају грануле калцита (будућа језгра за минерализацију) када дођу у контакт са угљен-диоксидом и угљеном киселином из ћелијског метаболизма (63). Са друге стране приликом контакта МТА и ткива, повећава се количина гликопротеина фибронектина, који се налази нормално у ткиву, а ког синтетишу фибробласти и ендотелне ћелије (63). Фибронектин омогућава адхезију, диференцијацију и пролиферацију ћелија који доприносе апозицији минерализованог ткива (63). Велики број студија је процењивао цитотоксични ефекат МТА на ћелије пародонталног лигамента, остеобласте, гингивалне фибробласте и ендотелне ћелије, а резултати су показали да испољава изузетно ниску цитотоксичност (64). Такође у поређењу са другим материјалима није показао мутагена својства (55).

Могућности за елиминисање микроорганизама у периапикалном подручју су јако су ограничени, па је антимикуробни ефекат МТА који потиче од високог рН и хидроксилних јона ($Ca(OH)_2$ се ослобађа у ткивну течност и узрокује висок рН који се задржава до 7 дана након мешања МТА), од изузетног значаја (58). рН виши од 9 може реверзибилно или иреверзибилно деактивирати ензиме на ћелијској мембрани микроорганизама, што доводи до губитка њихове биолошке активности (почетна рН вредност свеже помешаног МТА је 10,2, али достиже 12,5 после 3 сата, због ослобађања калцијум хидроксида током процеса хидратације)(66). Антимикуробни ефекат оставарују на бактерије из група *Enterococci*, *Actinomycetes*, *Propionibacterium*, *Streptococci*, *Yeasts* (67). Студије су показале да је МТА ефикасан инхибитор раста бактерија (68). *Enterococcus faecalis* је грам-позитивна факултативно анаеробна бактерија, један од микроорганизама који се најчешће повезују са неуспехом лечења током ендодонтских процедура и главни етиолошки фактор за периапикалне лезије које се развијају након ендодонтског третмана (66,69). Отпорна је на високе вредности рН. Студија Parinaz Estek и сар. је показала да МТА поседује антимикуробни ефекат према *Enterococcus faecalis*, али и да је нешто слабији у односу на Биодентин (66). Такође, и студија Miyoung Lim и Seunghoon Yoo је показала да МТА испољава антимикуробну активност према *Enterococcus faecalis* (58).

МТА је постао златни стандард за ретроградну оптурацију канала корена зуба (27). Већина студија објављених до данас су показале веће стопе успеха када је коришћен МТА, него конкурентни материјали. Процењена стопа зарастања након периапикалне хирургије у комбинацији са МТА износи 91,4 % (37). Поред одличне биокомпатибилности и антимикуробних својстава, МТА има способност да се одупре микроцурењу (смањи микроцурење) због адекватног заптивања и добре маргиналне адаптације (има добру адхезивност за дентин) (27,70). Истраживања су показала да је дебљина МТА од 4 mm довољна да се обезбеди правилно заптивање (55). Студија Pragna ManDava и сар. је показала да је микроцурење значајно мање код МТА у поређењу са Биодентином (релативно нов материјал од 2011. године) и светлосно полимеризујућим гласјономер цементом (44). Поред тога што се везује у влажној средини и има висок рН, димензионо је стабилан, показује лагану експанзију и има адекватну рендген контрастност. Утврђено је да рендген контрастно средство бизмут

оксид не остаје инертан; он омета хидратацију трикалцијум силиката, излучује се из цемента узрокујући промену боје зуба и цитотоксичност. Недавно је замењен другим рендген контрастним средствима (у неким формулацијама је то калцијум волфрам) (71). Физичкохемијске особине од значаја за МТА се налазе у табели 6 (55,72,73).

Особина	Вредност	Напомена
Време везивања	Иницијално време везивања 25–165 минута, крајње време везивања 140–284 мин.	Од значаја за оперативни ток, односно када ће у потпуности испољити физичкохемијске особине
Радно време	6 минута	Важан за процену руковања материјалом у адекватним условима температуре и влажности
Димензионална стабилност	+ 0.30 %	Показује изузетно минималну експанзију у току везивања и оставарује компресију на зидове дентина јер се везује у влажној среди
Растворљивост	1,1–1,5 % од укупне масе; повећана растворљивост је примећена када се меша са више раставарача.	Да би материјал био у складу са стандардом, цемента не смеју имати растворљивост већу од 3 % по маси.
Компресиона чврстоћа	27; 65-86,23 МПа, најмања је непосредно након везивања, док свој максимум испољава за 21 дан	Колико може да издржи притисак пре ломљења, утиче на дуготрајност терапије
Рендген Контрасност	6,4–8,5 mm (Al)	Изражава се у сивој белој скали која одговара дебљини алуминијума, битна за контролу и локализацију материјала за оптурацију
Савојна чврстоћа	10,5 МПа код мануелног мешања; код механичког мешања 9.99 МПа	Показује способност материјала да издржи раздвајање и фрактуру, чиме се спречавају микропукотине у самом материјалу или на споју са дентином
РН вредност	почетни рН од 10,2 који расте на 12,5 три сата након мешања.	Од значаја за антимикробна својства, регенерацију и репарацију периапикалног ткива

Табела 6. У табели је преглед физичкохемијских особина МТА цемента од значаја за клиничку праксу.

Употребом МТА као материјала избора у ретрооптурацији, поред одличних карактеристика и повећање стопе успешности периапикалне хирургије на преко 90%, МТА је показао и одређене недостатке (48,55,57,68,73,74):

1. Промена боје МТА и околне структуре зуба је изазов за клиничара чак и код новијих генерација МТА, сматра се да су соли гвожђа и мангана и бизмут оксид одговорни за дисколорацију. Такође, арсен иако присутан у траговима може да узрокује пребојеност околног ткива. МТА је првобитно формулисан као сиви прах, али је бели МТА касније развијен да би се превазишла промена боје зуба. Међутим, недавне студије су показале да бели МТА такође изазива промену боје. Недавно истраживање је показало да модификација белог МТА са пропилен гликолом, има најмањи ефекат промене боје.
2. Дисколорације зуба и гингиве је од значаја у естетским подручјима. Клиничарима се саветује да користе МТА цемент са опрезом и упозоре пацијенте да може доћи до извесне промене боје, што је мали недостатак

када се узму у обзир многе друге предности овог материјала. Разлог за промену боје зуба и гингиве је дискутабилан, углавном је повезан са интеракцијом између бизмут оксида, колагена зубног ткива и натријум хипохлорита.

3. Неадекватне конзистенције (зрнаста структура), његова грануларна конзистенција отежава његово уметање у ретроградно испрепарисан кавитет.
4. Висока цена, генерално је скупљи од других стоматолошких материјала на тржишту који се могу користити за ретроградну оптурацију у периапикалној хирургији.
5. Отежана манипулација (када смеша почне да се суши, губи кохезивност и постаје веома тешко руковати цементом) и апликација (ручно се наноси шпатулом, што отежава дистрибуцију на место хируршке интервенције). Такође, може се испрати у присуству прекомерног крварења или других ткивних течности, што може угрозити његов опстанак у ретроградно испрепарисан кавитет. Доказано је да додавање карбоксиметил хитозана или желатина у цемент на бази калцијум силиката побољшава отпорност на испирање.
6. Тешко се уклања из канала корена, због добре микромеханичке и хемијске везе са дентином и благе експанзије.
7. Има кратко радно време и дуго време везивања услед чега може доћи до растворљивости, распадању или истискивању материјала из ретроградно испрепарисаног кавитета, а што за последицу има микропропустљивост, лоше рубно заптивање и оштећења континуитета апликованог материјала у кавитет. Како би се скратило радно додају се адитиви (CaCl_2 , $\text{Ca}(\text{HCO}_2)_2$ и Na_2PO_4) међутим, они могу смањивати компресиону чврстоћу. За разлику од осталих материјала за ретроградну оптурацију, укључујући амалгам, гласјонемер цемент, цинк оксид еугенол и његове модификације, МТА има најдуже време везивања.
8. Висока растворљивост током прва 24 часа.

Масовнијом употребом МТА као материјала избора у ретрооптурацији, јавила се потреба за унапређењем његових лошијих карактеристика. МТА цемент је модификован бројим материјалима, честицама и адитивима, првенствено са циљем да се тренутни недостаци МТА отклоне, а повољне карактеристике од значаја за клиничку примену задрже или унапреде. У табели 7 дата је класификација хидрауличних калцијум силикатних цемента на основу састава цемента, присуство адитива и течности која иницира везивање (71). Прва три типа цемента су пореклом Портланд цемента од природних сировина, док је четврти и пети тип састављен од калцијум силикатног цемента синтетског порекла, а као разлог потпуне замене Портланд цемента лабораторијским цементом је присуство трагова метала у Портланд цементу и њихово таложење у периферним органима (71).

Г и п	Основни састав	Адитиви	Течност за везивање	Напомена
1	Портланд цемент 80 % и бизмут оксид 20 %	Не	меша се са дестилованом водом	ProRoot МТА (<i>Dentsply</i> , САД); чист МТА састав
2	Портланд цемент	Да	меша се са дестилованом водом	NeoMTA Plus (<i>Avalon Biomed</i> , САД)
3	Портланд цемент Уклањањем калцијум-сулфата скраћује се време везивања.	Калцијум тунгстат као рендген контрастно средство	хидратацији у присуству течности из околине	Bio-C Repair (<i>Angelus</i> , Бразил) материјал спреман за употребу
4	Трикалцијум/дикалцијум силикат (80 %), калцијум карбонат (15 %), гвожђе оксид (<1 %), цирconiјум оксид (5 %)	Калцијум карбонат делује као акцелератор реакције хидратације	Течна компонента садржи воду, калцијум хлорид и полимер	Biodentin (<i>Septodont</i> , Францунска) знатно краће време везивања
5	Трикалцијум (30–36 %), дикалцијум силикат (9–13 %), калцијум сулфата (3–8 %) и цирconiјум оксида (15–18 %) и тантал пентаоксид	цирconiјум оксида као рендген контрастно средство	хидратацији у присуству течности из околине	TotalFill (<i>FKG Dentaire</i> , Швајцарска) Материјал спреман за употребу

Табела 7. У табели је дат кратак преглед развоја МТА цемента са комерцијални представником из сваке групе.

Иако је МТА цемент материјал избора за ретроградну оптурацију са одличним клиничким и биолошким карактеристика, прегледом литературе може се уочити да се и даље спроводе истраживања на тему модификације МТА цемента различитим материјалима. Највећи број модификација још увек није у клиничкој употреби, међутим и те како су од значаја јер дају нове информације о унапређеним физичкохемијским и биолошким карактеристикама МТА цемента и потенцијалној употреби у клиничкој пракси. Такође, став истраживача је поприлично неусагласан по питању избора материјала за модификацију и иделане концентрације, као да ли треба користити природно пречишћени Портланд цемент или синтетисане компоненте калцијум силикатног цемента. Клиничари који теже да у своју праксу укључе најновије и најбоље доступне доказе често су збуњени експоненцијалним порастом истраживања о МТА од 1993. године, што је довело до појаве бројних модификованих материјала и мноштва рандомизованих клиничких студија са неуједначеним резултатима. У табели бр. 8 приказана су нека од актуелих истраживања везаних за утиција модификација МТА цемента на физичкохемијске и биолошке карактеристике.

Модификација МТА цемента	Исход модификације
1 % метил целулоза/калцијум хлорид (CaCl ₂) 2 % метил целулоза/калцијум хлорид (CaCl ₂) (процентуална заступљеност се односи на укупни масени удео).	Смањено време везивања, лакша апликација и успорено спирање модификованог МТА и портланд цемента у односу на чист МТА и Портланд цемент (75).
1 % калцијум флуорид (CaF ₂) 5 % калцијум флуорид (CaF ₂) 10 % калцијум флуорид (CaF ₂) (процентуална заступљеност се односи на укупни масени удео).	Додавање више од 5 % калцијум флуорида показује боље антибактеријске ефекте против <i>E. faecalis</i> , <i>P. endodontalis</i> и <i>P. gingivalis</i> него чисти МТА (58).
10 %, 20 %, 30 % воластонита (CaSiO ₃) 10 %, 20 %, 30 % биоактивно стакло (енгл. <i>Bioglass</i>) (процентуална заступљеност се односи на укупни масени удео).	Физичка својства (компресиона чврстоћа) су побољшана додавањем воластонита и биоактивног стакла у експерименталном цементу, смањено је и времена везивања. Растворљивост је била испод 3 % за све групе (62).
10 % флуорхидроксиапатит 15 % флуорхидроксиапатит (процентуална заступљеност се односи на укупни масени удео).	Дошло је до повећања антимикробне активности, највећа активност је била у интервалу од 72 сати у модификацији са 15 % флуорхидроксиапатита (67).
Синтеровани трикалцијум-силикатни цемент обогаћен ZnO (1 % масеног удела CaO је замењено са ZnO), уз додаток ZrO ₂ (25 % масеног удела у прах) као агенса који обезбеђује ренгенконтасност.	Радиоконтасност је окарактерисана степеном транс lucенције који одговара слоју од 6 mm дентина и слоју глеђи од 1 mm. У тестовима директног и индиректног контакта, најнижу токсичност према ћелијама L929 показао је модификовани цемент. Тестови су такође доказали антибактеријску активност цемента према <i>Streptococcus mutans</i> и <i>Streptococcus sanguinis</i> (60).
Експериментални МТА (Пораланд цемент + бизмут оксид) обогаћени са 20 % воластонита (CaSiO ₃) и 10 % биоактивним стаклом (енгл. <i>Bioglass</i>).	На површини свих цемента пронађени су игличасти кристали карактеристични за хидроксиапатит. Додавање воластонита или биоактивног стакла довело је до побољшане маргиналне адаптације (57).

Табела бр. 8. У табели су приказане неке од актуелних модификација МТА цемента.

На основу прегледа доступних истраживања, а у циљу унапређења тренутних актуелних клиничких недостатка, поредне су даље модификације и усавршавања МТА цемента како би се оптимизовале његове физичкохемијске и биолошке особине, отклонила постојећа ограничења и омогућило пуно искоришћење његовог клиничког потенцијала у ретроградној оптурацији. Многи истраживачи наглашавају да свака промена у саставу МТА и увођење нових биоматеријала захтевају претходно испитивање биокомпатибилности, цитотоксичности, генотоксичности, способности заптивања, нерастворљивости и улогу у регенерацији ткива, пре него што се препоруче за клиничку употребу. Највећи број истраживања је управо на тему потенцијалног адитива и одговарајуће концентрације са циљем постизања што иделанијих физичкохемијских особина и адекватних биолошких карактеристика како би се клинички успех осигурао, а регенеративни и репарторни потенцијали периапикалног ткива били максимално искоришћени

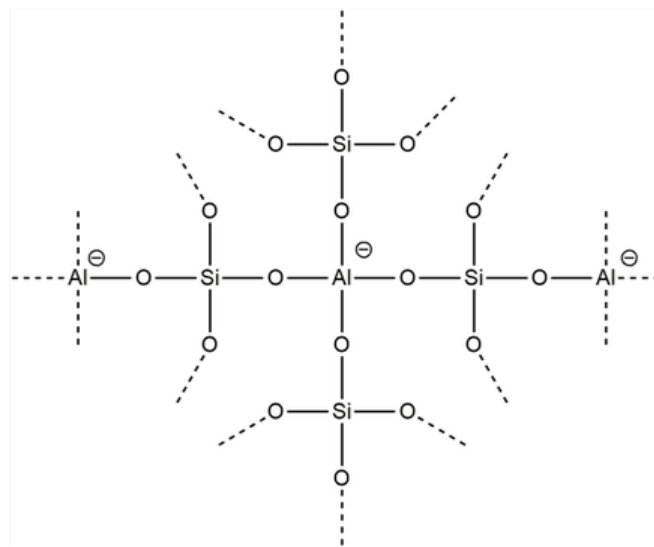
1.4 Зеолит

Зеолити представљају хидратисане микропорозне алумосиликатне минерале

који припадају групи тектосиликата (Слика 5) (76,77). Зеолити се природно формирају вулканском активношћу (78,79). Током вулканске ерупције, магма заједно са различитим гасовима, честицама прашине и густим пепелом пробија земљину кору и формира лаву. Такви догађаји настају услед конвергенције и дивергенције тектонских плоча. Уколико се овакве појаве дешавају у близини водених површина, лава често доспева у мора и океане. Након контакта са морском водом, током хиљада година пролази кроз низ реакција са сољу и водом, услед чега настају кристалне структуре познате као зеолити (78,79).

Назив зеолит потиче од две грчке речи: „zeo“ = кључати и „lithos“ = камен, што у преводу значи „камен који кључа“ (78,79) Овај термин је 1756. године увео шведски минералог Axel Fredrik Cronstedt.

Хемијски посматрано, зеолити су алуминосиликатна једињења са порам величине између 3 и 10 анстргема (енгл. *Angstrom*, Å) (79)



Слика 5. Приказана је тетрадарска структура природног зеолита. Основне градивне јединице зеолита су тетраедри које чине $[\text{SiO}_4]^{4-}$ и $[\text{AlO}_4]^{5-}$ групе, повезане међусобно кисеоничним мостовима. Слика преузета из публикације Argüello и сар. (80).

До данас је идентификовано око педесет природних и приближно две стотине синтетичких врста зеолита, међу којима су најзаступљенији клиноптилолит, моденит, кабаксит, ерионит и филипсит. Ови минерали имају изузетну способност да реверзибилно губе и примају воду, као и да измењују своје конституционе катјоне без значајнијих промена у кристалној структури (65,79). Њихова тродимензионална решетка изграђена је од тетраедара типа TO_4 ($[\text{SiO}_4]^{4-}$ и $[\text{AlO}_4]^{5-}$), који су међусобно повезани преко заједничких атома кисеоника (76,77). Међусобним повезивањем ових тетраедара формирају се секундарне изграђивачке јединице, најчешће у облику једноструких или двоструких прстенова са четири, пет, шест, осам или десет примарних јединица (79). До сада је описано 23 различита типа секундарних јединица, што омогућава класификацију зеолита у исто толико структурних група. Поред тога, зеолити се могу сврставати и према густини мреже, координационом низу или димензијама канала.

Повезивање тетраедара у једном, два или три правца резултира порозном структуром испуњеном каналима и шупљинама, у којима се налазе катјони и молекули воде (77,81). Ови молекули и јони поседују висок степен покретљивости, што омогућава катјонску изменљивост и реверзибилну дехидратацију. Због изоструктурне

супституције четворовалентног силицијума (Si^{4+}) тровалентним алуминијумом (Al^{3+}), површина зеолита добија негативно наелектрисање, које се неутралише присуством једновалентних и двовалентних катјона (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , ређе Li^+ , Sr^{2+} , Ba^{2+}) (82). Ови катјони могу бити лако замењени другим, што представља основу јонске измене. Однос ($\text{Si}+\text{Al}$):О код зеолита износи 1:2, а сума позитивних наелектрисања изменљивих катјона једнака је броју алуминијумових атома у тетраедарским положајима (82). Број молекула воде варира у зависности од врсте зеолита, а загревањем до око 350°C већина воде се ослобађа из кристалне решетке. Имају широку примену у заштити животне средине, медицини, фармацији, производњи сточне хране и грађевинској индустрији (77,79,82,83).

Према величини пора у структури, зеолити се деле на:

1. мале поре (3–5 Å; 8–9 тетраедара),
2. средње поре (5–6 Å; 10 тетраедара),
3. велике поре (6–7,5 Å; 12 тетраедара),
4. веома велике поре ($>7,5$ Å; више од 12 тетраедара) (77).

Зеолити са већим порама, имају већу порозност, а самим тим имају и већи капацитет јонске измене.

Клиноптилолит је најзаступљенији природни зеолит и представља чест производ алтерације витрокластичних седимената, који су дијагенетски измењени у копненим и морским срединама (84). Такође, од свих познатих зеолитских минерала, клиноптилолит има најшире подручје примене (83,85). Он припада групи зеолита хејландитског типа (енгл. *Heulandite*, HEU-тип), у кристалном облику, а у зависности од доминантног катјона може постојати у облицима Na-, K- или Ca-клиноптилолита (76,84). Кристална решетка клиноптилолита изграђена је од тродимензионалне мреже (састоји се од тетраедара силицијум-диоксида ($[\text{SiO}_4]^{4-}$) међусобно повезаних кисеоничним атомима, при чему су неки атоми силицијума замењени атомима алуминијума ($[\text{AlO}_4]^{5-}$), која даје карактеристична просторну структура са великим бројем пора (запремина ових пора износи 24–32 %), које се међусобно повезују и формирају канале у којима се могу налазити метални катјони или молекули воде (78). Зеолит-клиноптилолит поседује следеће карактеристике:

1. Интезивна јонска измена и селективност;зол
2. Реверзибилна хидратација и дехидратација;
3. Висок капацитет апсорпције гасова;
4. Отпоран на високе температуре;
5. Отпорност на агресивне средине (киселе средине);
6. Отпорност на јонизујуће зрачење;
7. Код људи и животиња нису пронађени штетни ефекти при продуженој употреби лекова на бази природног клиноптилолита у толерисаним дозама;
8. Делује као ауто-биорегулатор код људи и животиња, при чему хидратисани SiO_2 игра главну улогу;
9. Има добру биокомпатибилност и антимицробна својства, што је разлог његове све чешће примене у различитим стоматолошким истраживањима (77–80,83,84).

Налазиште природног минерала зеолита–клиноптилолита, се налази у месту Златокоп у Врањској Бањи, Република Србија (86). Према полуквантитативној

рендгенској структурној анализи (енгл. *X-ray Diffraction*, XRD), садржај клиноптилолита износи око 75% кристалне фазе, док су присутни и остали кристални минерали кварц, фелдспат и карбонат (84).

4.1 Примена зеолита у стоматологији

Зеолит има широку примену у медицини и стоматологији, због низа позитивних особина и од значаја за употребу у свакодневной клиничкој пракси. Испољавају добре физичкохемијске особине у средини као што је усна дупља, имају биоактивна својства, процес израде и инкорпорације је једноставан и нису у контрадикторности са начелима савремене стоматолошке праксе. Позитивне карактеристике од значаја за примену у стоматологији су следеће:

1. Садржи порозну структуру и негативно наелектисане канале у којима се могу задржавати катјони, хидроксилне групе и вода;
2. Поседује могућност везивања и отпуштања јона;
3. Добра биокompatibilност;
4. Позитивна антимикробна својстава за бактерије присутне у усној дупљи, посебно од значаја је утицај на развојавање микроорганизама и инактивација њихових ензима;
5. Лако се модификује са другим материјалима (јонима цинка и сребра, за добијање бољих физичкохемијских и антимикробних особина);
6. Поседује дуготрајну ефикасност и стабилност (физичкохемијска постојаност и термичка стабилност);
7. Утиче на механичка својства материјала (компресиону чврстоћу, савојну чврстоћу, време везивања, степен растворљивости, микротврдоћу, порозност);
8. Потенцијално регенеративне особине у коштану и ткивно вођеној регерацији;
9. Лако се комбиује са нано материјалима (65,77,79).

Природне карактеристике зеолитних материјала могу се лако искористити, а по потреби и модификовати како би се уградили у већ постојеће материјале и унапредиле њихове карактеристике. Примену је нашао у материјалима из свих области стоматологије:

1. Гласјономер цементи: Уочено је да се повећањем удела зеолита модификованог сребром (AgZ) повећава и инхибиторна активност против оралних бактерија као што је *Streptococcus mutans*. Важно је напоменути да гласјономер цемент са додатком AgZ може континуирано ослобађати јоне сребра током дужег временског периода, док сам гласјономер цемент ослобађа флуорид интензивно, али само током прва два дана. Иако су антибактеријске способности гласјономер цемент директно повезане са концентрацијом зеолита, количина зеолита коју гласјономер цемент може ефикасно да интегрише ограничена је механичким својствима која настају услед његове модификације (имеђу 1 % и 3 % од укупног масеног удела не утичу на механичка својства);
2. Композитни цементи: Уградња зеолита у смолу повећала је њена антибактеријска својства против одређених микроорганизама. *Streptococcus mutans* и *S Streptococcus mitis* били су инхибирани различитим односима AgZ и

ZnZ. Компресиона и савојна чврстоћа модификованих композитних цемента је побољшана или остала иста;

3. Денталним имплантатима: премазивање титанијумских имплантата са AgZ показало се успешним у сузбијању развоја метицилин-резистентног *Staphylococcus aureus*. Титанијумски дентални имплантати обложени стронцијум зеолитом показују побољшану биокompatibilност, отпорност на корозију, остеогенезу и осеоинтеграцију.
4. Акрилатним материјима: 2,5 % Ag-Zn-Ze додатог у полиметил-метилакрилату (енгл. *Polymethyl methacrylate*, PMMA), ефикасно је инхибирало *Candida albicans* *Streptococcus mutans*. Као резултат тога, и AgZ и Ag-Zn-Ze могу бити погодне опције за побољшање антибактеријских карактеристика PMMA. У зависности од типа акрилне смоле, додавање AgZ у концентрацијама већим од 2,5 % значајно смањује компресиону и савојну чврстоћу. Како би се одржала прихватљива механичка чврстоћа, препоручује се додавање мање од 4 % од укупног масеног удела, а сматра се да до 2 % може допринети побољшању и механичких и антибактеријских карактеристика;
5. Не акрилатним материјалима: Најчешће коришћени зеолити у керамичким рестаурацијама био је содалит зеолит. Овај подтип зеолита има високи степен селективности и каталитичке активности и лако продире у друге материјале. Поред тога, сви испитани узорци импрегнирани содалит зеолитом показала су савојну чврстоћу изнад толеранција прописаних ISO (енгл. *International Organization for Standardization*) стандардима. Више истраживања је показало да материјали инфилтрирани содалит зеолитом имају знатно већу савојну и компресиону чврстоћу када се загреју на 1600 °C у поређењу са контролним узорцима инфилтрираним стаклом;
6. Дијагностичким средства у оралним карциномима: хибридни филмови на бази зеолита (ZSM-5) и полидиметилсилоксана могу се користити за идентификацију тумор-специфичних биомаркера код планоцелуларних карцинома усне дупље;
7. Средства за интракалалну медијацију: Калцијум хидроксид модификован AgZ, показао је боља антимикробна својства у поређењу са контролном групом или са калцијум хидроксидом модификованог хлорхексидином;
8. Материјали за регенерацију коштаног и ткива: зеолит модификован имидазолатом 8 може модификовати бифазну калцијум-фосфатну керамику, материјал који се користи као коштани графт, тако што премазује њену површину. Мења површински напон керамике и ефикасно подстиче пријањање ћелија, њихову пролиферацију, диференцијацију и регенерацију кости;
9. Ортодонским бравицима: Ортодонтске бравице модификоване зеолитом углавном имају повећана антибактеријска својства, нарочито она која су модификована цинк-оксид зеолитом, имају јак антибактеријски ефекат против *Klebsiella pneumoniae* и *Escherichia coli*. Физичке особине металне бравице као што је савојна чврстоћа се смањује са повећањем концентрације цинк-оксид зеолита;

10. Материјал за зарастање ране: Зеолит-клиноптилолит може се користити након екстракције зуба ради зарастања ране и стимулације формирања нове кости. Захваљујући својој способности јонске измене и апсорпционим својствима, може извршити детоксикацију алвеоле тако што неповратно апсорбују бактерије, хистамине и друге инфламаторне протеине и ексудате у рани. Такође, може позитивно деловати на крвни угрушак у алвеолу и подстаћи формирање гранулационог ткива, чиме се ублажава запаљење и убрзава зарастање ране. Поред тога, зеолит-клиноптилолит отпушта калцијум и силицијум, који су неопходни минерали за формирање кости;
11. МТА цементи: Зеолити могу појачати антибактеријска дејства МТА, а истовремено смањити његова механичка својства (они имај негативан утицај на физичке параметре као што су време везивања, савојна и компресиона чврстоћа). Међутим, потребна су додатна истраживања како би се утврдила прецизна концентрација зеолита која може утицати на механичка и физичка својства МТА. Већина оралних бактерија, укључујући *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* била је инхибирана AgZ у модификованим МТА. У поређењу са МТА који садржи 2 % хлорхексидина, показано је да 2 % AgZ има јачи антибактеријски ефекат (65,77,79,87–91).

Цементи на бази МТА представљају први избор у ендодонтској терапији и периапикалној хирургији. Основу МТА чини Портланд цемент чија је хидрофилна природа задржана, и у модерним формулацијама замењен синтетским силикатним компонентама како би се избегло присуство токсичних нечистоћа. Иако МТА показује одличне биолошке и клиничке резултате, уочени су и одређени недостаци, што је довело до интензивног развоја различитих модификација са циљем побољшања његових својстава. Једна од новијих модификација укључује употребу зеолита (модификованог и немодификованог), чија се посебна вредност огледа у побољшању њихове биокompatбилност и антимикуробних особина. Ипак, у литератури и даље постоје различита мишљења о утицају зеолита на физичкохемијске карактеристике МТА цемента. Иако поједине студије указују на повољне ефекте његове примене, недовољно је истражена област модификације МТА цемента зеолитом-клиноптилолитом било у природном, било у јонски измењеном облику нарочито у контексту ретроградне оптурације и процене њихових физичкохемијских, антимикуробних својстава и микроциурења.

2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА

2.1 Циљ истраживања

- 1) Утврдити утицај модификације МТА зеолитом на физичкохемијске карактеристике испитиваних цемента.
- 2) Утврдити утицај модификације МТА зеолитом на антибактеријске карактеристике испитиваних цемента.
- 3) Утврдити утицај модификације МТА зеолитом на рубно заптивање у апексној оптурацији једнокорених зуба.
- 4) Утврдити утицај модификације МТА зеолитом на биокомпатибилност испитиваних цемента.
- 5) Утврдити утицај модификације МТА зеолитом на имуномодулаторне ефекте испитиваних цемента.

2.2 Хипотезе истраживања

- 1) Модификација МТА зеолитом позитивно утиче на физичкохемијске карактеристике испитиваних цемента.
- 2) Модификација МТА зеолитом позитивно утиче на антибактеријске карактеристике испитиваних цемента.
- 3) Модификација МТА зеолитом побољшава рубно заптивање у апексној оптурацији једнокорених зуба.
- 4) Модификација МТА зеолитом не утиче на биокомпатибилност испитиваних цемента.
- 5) Модификација МТА зеолитом потенцијално модулише имунски одговор.

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Ово истраживање представља експерименталну студију на узорцима цемента и *in vitro* студију на извађеним једнокореним зубима. Тестирани узорци иситиваних цемента су изливени у посебне калупе посебно дизајнирани за сваки тест. У свакој групи било је по 10 узорака. Истраживање је обухватило 40 једнокорених зуба интерканине регије пацијената старијих од 18 година, индикованих за екстракцију због пародонтопатије, уз писмену сагласност пацијената. Вађење зуба је обављено у локалној анестезији уз претходно постављену индикацију за вађење зуба. Студија је споведена у лабораторији за материјале на Институту за нуклеарне науке „Винча“ Универзитета у Београду и на Факултету Медицинских наука Универзитета у Крагујевцу. Истраживање је одобрено од стране Етичког одбора Факултета Медицинских наука Универзитета у Крагујевцу (29.04.2024. број одобрења:01-4098/4).

3.1 Припрема узорака

У овом истраживању коришћен је један комерцијално доступан МТА цемент (*MTA BIOREP, Itena Clinical*, Француска) и три модификована МТА цемента. Модификација МТА цемента припремљена је додавањем (5% од укупног масеног удела) природног зеолита-клиноптилолита и модификованог зеолита клиноптилолита цирконијум диксидом (ZrO_2) или сребром (Ag) и цинком (Zn) у прашкасту компоненту МТА. За потребе студије коришћен је природни зеолит клиноптилолит са налазиштем у Врањској Бањи (Република Србија) и величином честица $100\% < 0,043 \text{ mm}$, који је тестиран је као потенцијални додатак (адитив) МТА цементу. За модификацију природног зеолита ZrO_2 коришћена је измењена процедура претходно описана код Shanqing Yu и сар. (2021) (92). 10 g природног зеолита-клиноптилолита је помешано са 0,4 g ZrO_2 и 100 cm^3 дестиловане воде. Суспензија је мешана 2 сата на собној температури, а затим је додато 2,25 g NH_4Cl и 100 cm^3 дестиловане воде. Суспензија је загревана 2 сата на $60 \text{ }^\circ\text{C}$, а потом још 3 сата на $500 \text{ }^\circ\text{C}$ у присуству ваздуха. На крају је узорак модификованог зеолита клиноптилолита ZrO_2 уситњен у авану уз помоћ пестила и у таквом облику коришћен за даље истраживање. Модификација природног зеолита клиноптилолита јонима Ag и Zn изведена је на следећи начин: 10 g природног зеолита клиноптилолита је помешано са 100 cm^3 раствора $AgNO_3$ (концентрације $0,35 \text{ mol/dm}^3$) и мешано 24 часа. Потом је додато 100 cm^3 раствора $ZnSO_4$ (концентрације $0,35 \text{ mol/dm}^3$) и мешано још 24 часа. Суспензија је затим филтрирана, испрана, осушена, уситњена у авану уз помоћ пестила, и као таква коришћена у даљем истраживању. Главне компоненте сваког материјала приказане су у табели 9.

Група 1	MTA BIOREP
Група 2	MTA BIOREP + 5 % природног зеолита (клиноптилолита)
Група 3	MTA BIOREP + 5 % природног зеолита (клиноптилолита) модификованог ZrO_2
Група 4	MTA BIOREP + 5 % природног зеолита (клиноптилолита) модификованог AgZn

Табела 9. У табели су приказане модификације МТА цемента.

Мешање цемента вршено је ручно, уз помоћ аналитичке ваге и шпатуле. Комерцијални МТА цемент је мешан према упутству произвођача. Модификовани МТА цемент мешан је у односу 1 g праха : 0,4 ml стерилне дестиловане воде. Ови узорци цемента су коришћени за процену утицаја модификације МТА зеолитом на антибактеријске карактеристике, биокompatibilност и рубно заптивање у апексној оптурацији једнокорених зуба. За процену утицаја модификације МТА зеолитом на физичкохемијске карактеристике, коришћен је комерцијално доступан Портланд цемент због веома сличног састава и карактеристика као МТА цемент и због смањења трошкова у поређењу са МТА (75). Модификација Портланд цемента извршена је на исти начин и са истим супстанцама као у претходном случају.

3.2 Анализа компресионе и савојне чврстоће

Анализа компресионе чврстоће (Слика 6) вршена је помоћу апарата за одређивање механичких особина материјала *Instron 1185* (*Instron, Norwood, Сједињене Америчке Државе*).



Слика 6. На слици је приказан апарат *Instron 1185* за тестирање механичких особина материјала. На овом апарату вршена је процена сила за савојну и компресиону чврстоћу.

Кидалица је капацитета 100 kN, и састоји се од доњег непомичног дела и горњег покретног дела који се покреће у вертикалном правцу ка непомичном делу брзином од 100 ms и врши притисак на узорак. Уређај је повезан за рачунар на коме је инсталиран софтвер *DSC Toolkit* (*Mantracourt Electronics Ltd, Велика Британија*), који бележи силу током испитивања. Уређај је дизајниран да могу да се анализирају мали узорци са

прецизношћу мерења од $\pm 0,5 \text{ N}$. За потребне анализе компресионе чврстоће узорци цемента су били изливени у калупе облика цилиндра, димензија $12,2 \text{ mm} \times 30 \text{ mm}$. Након постављања узорка цемента између горње и доње чељусту кидалице (Слика 7), горњи део кидалице се покреће вертикално наниже вршећи компресију на узорак цемента до тренутка док се не појави уздужна пукотина (софтвер региструје максималну силу у тренутку пуцања, изражену у N). Компресиона чврстоћа се изражава математичком формулом: F (сила изражена у N) / површином круга за дати узорак над којим се врши испитивање r^2 (полупречник узорка у mm) $\times \pi \sim 3,14$. Компресиона чврстоћа се изражава у Mpa .

Савојна чврстоћа је такође анализирана на уређају (Слика 8) за одређивање механичких особина материјала *Instron 1185*. Користили смо модел за анализу савојне чврстоће у три тачке. Две тачке које су уједно и ослонац налазиле су се на доњем делу кидалице испод узорка, симетрично распорођене у непосредној близини крајева цилиндра. Покретни део кидалице који се креће вертикално наниже предствљао је трећу тачку са којом је вршено оптерећење, постављена на средини узорка. Софтвер *DSC Toolkit* је бележио максималну силу (изражену у N) у тренутку пуцања узорка. За потребне овог теста узорци цемента су изливени у посебне цилиндричне калупе димензије $8,8 \text{ mm} \times 30 \text{ mm}$. Добијене вредности су заменењене у математичкој формули за израчунавање компресионе чврстоће за узорак кружног пресека: F (сила у N) $\times L$ (дужина узорка у mm) / r^3 (полупречник узорка у mm) $\times \pi \sim 3,14$. Добијена вредност је изражена у Mpa .



Слика 7. Компресиона чврстоћа

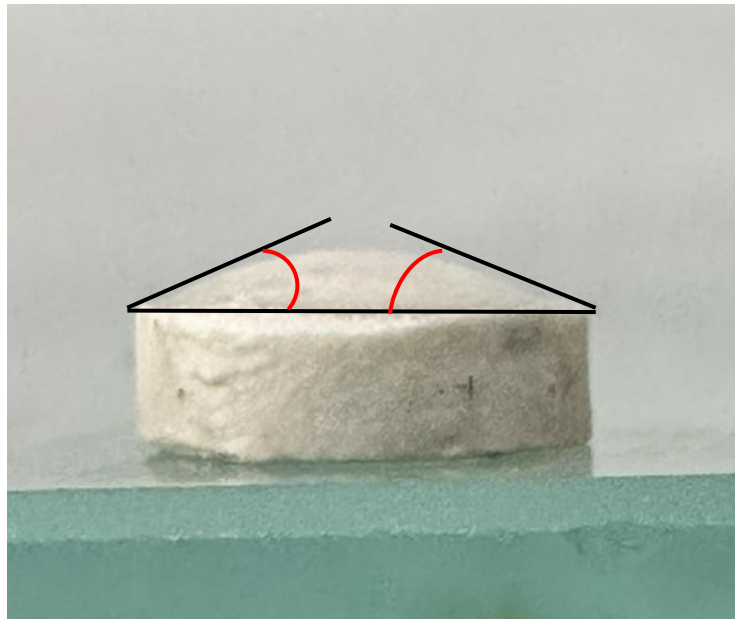


Слика 8. Савојна чврстоћа

3.3 Анализа угла квашења

Угао квашења, односно мерење контактеног угла је обављено на узорцима цемента облика диска пречника 5 mm и дебљине 3 mm . Микрошприц је коришћен за апликацију

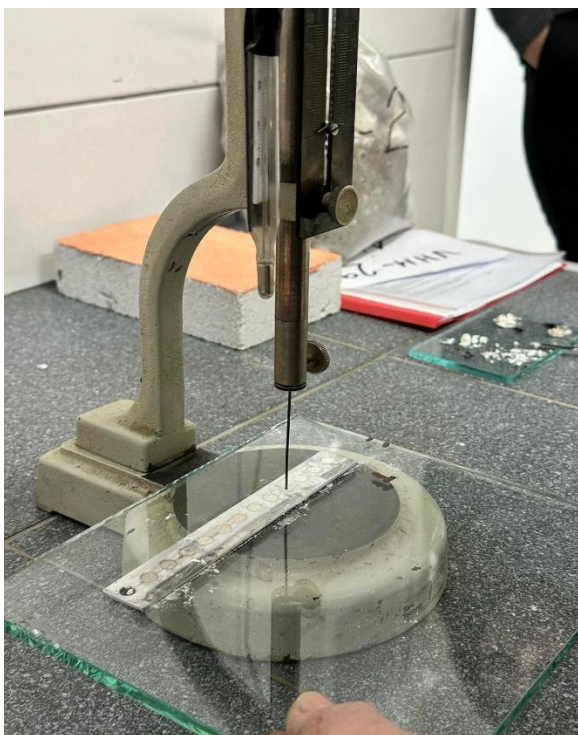
капи воде на површину узорка. Узорак цемента је постављен на стаклену плочицу, а након тога је нежно микрошприцем апликована једна кап ($5 \mu\text{l}$) воде. Након 30 секунди од апликовања, вршено је сликање узорака под правим углом уз помоћ **дигиталне микрокамере**. Анализа контактнoг угла је обављена у програму *Image J* (*National Institutes of Health and the Laboratory for Optical and Computational Instrumentation*, САД) уз помоћ алата за анализу контактнoг угла (*Contact angle analyser*). Спроведена су два мерења по узорку. Мерење је вршено на месту додира капљице и површине цемента (Слика 9), односно угао додира.



Слика 9. Анализа контактнoг угла, између површине цемента и тангенте капи

3.4 Анализа времена везивања

Време везивања цемента испитано је уз помоћ стандардног Викат апарата са иглом (*Toni Technik Baustoffprufsysteme GmbH*, Немачка). Маса игле је $300 \pm 0,5 \text{ g}$, са равним врхом пречника $1 \pm 0,5 \text{ mm}$ (Слика 10). Калупи коришћени за тестирање узорака били су ширине 5 mm и дубине 3 mm . Мешање је изведено на стакленој плочи уз помоћу металне шпатуле за стоматолошки цемент све док се нису масе цемента хомогенизовале. Након постизања хомогене смеше, цемент је пренет у калупе напуњен да прелива, који су били ослоњени на стаклене плоче ради боље контроле материјала. Вишак материјала уклоњен је металном шпатулом док површина није постала глатка и изравнана. Непосредно након стављања у калуп, игла за мерење је спуштена вертикално на површину тестираног цемента, како би се одредио почетак мерења. Након одређивања почетног времена, мерења су настављена до времена коначног везивања. Овај поступак је понављан сваких 5 минута док игла није направила потпуно кружно удубљење у тестираном материјалу (Слика 11). Игла је чишћена између сваког тестирања. Сматрало се да је везивање завршено када игла више није могла да продре у површину материјала након што је спуштена и остављена да мирује 30 секунди.



Слика бр. 10. Викаг апарат са иглом



Слика бр. 11. Отисак игле у тест узорку

3.5 Анализа растворљивости

За испитивање растворљивости направљени су узорци облика диска дијаметра 7 mm и дебљине 3 mm. Пре мерења узорци су остављени да се вежу 24 сата на 37 °C. Узорци су прво измерени на аналитичкој ваги (*KERN ADB*, *KERN & SOH*, Немачка) а након тога потопљени у фосфатном пуферу 30 дана (Слика 12 и 13).



Слика 12. Аналитичка вага.

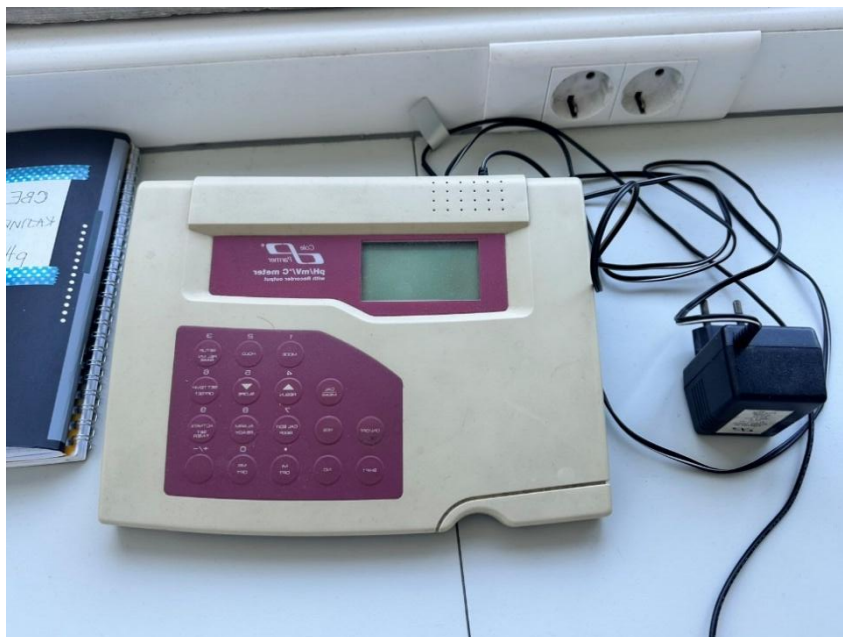


Слика 13. Фосфатни пуфер и узорак.

Фосфатни пуфер је од значаја јер одржава константан рН (7,4), док је осмоларност и концентрација јона раствора слична људском телу и на тај начин симулира ткивну течност са којом је цемент у контакту након апликације у периапикалној регији. Пре мерења на аналитичкој ваги, тестирани узорак се је одлагао у сушилици на температури од 60 °С 1 сат како би био одстранили вишак воде. Разлика у тежини између првог и последњег мерења је узета као индикативни критеријум за растворљивост материјала.

3.6 Анализа рН вредности

рН вредност испитина је уз помоћ лабораторијског рН метра (*Cole-Parmer pH, mV/°C meter; Antylia Scientific, САД*) (Слика 14).



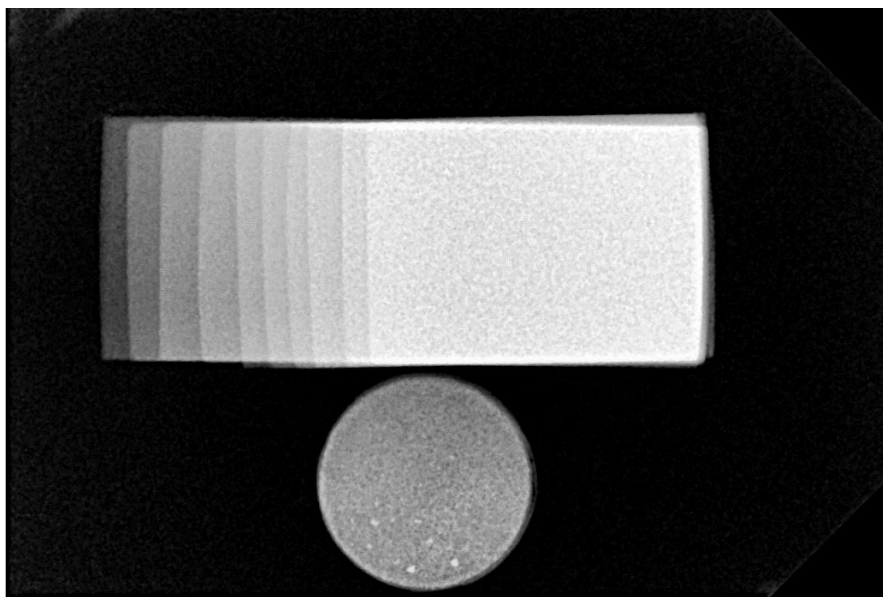
Слика 14. На слици је приказан лабораторијски рН метар.

За потребе овог теста, користили смо узорке облика диска дијаметра 7 mm и дебљине 3 mm. Након припреме и мешање узорака цемента, узорци су остављени један сат на 37 °С да се вежу. Затим су потпољени у 10 ml дестиловане воде 30 дана. Иницијално мерење рН вредности обављено је 10 минута након потапања. У континуитету након 24 сата, 72 сати, 15 дана и 30 дана праћена је рН вредност. Пре сваког мерења изурка вршена је калибрација инструмента у дестилованој води, исте рН вредности у којој су потопљени узорци цемента. Између сваког мерења, сонда рН метра је детаљно очишћена дестилованом водом како би се омогућило што прецизније мерење сваког раствора.

3.7 Анализа рендгенконтрастности

За мерење рендгенконтрастности модификованих цемента, направили смо узорке облика диска дијаметра 7 mm и дебљине 2 mm. Узорци цемента постављени су

поред стандардизованих алуминијумских степеница (10 листића алумијума, поређаних у степеничасти еталон) дебљине од 1 mm. Сви елементи су постављени на дигитални ретроалвеоларни сензор (*Woodpecker - i-Sensor - Digital X-Ray Sensor*, Р. Кина) (Слика 15.). Материјали су затим радиографисани рендген апаратом (*Sirona Dental Systems Bensheim*, Немачка) под стандардизованим условима (65 kV, 7 mA, 0,15 s, удаљеност 30 cm). Након снимања у софтверу *ImageJ* анализирани су узроци на основу сиво беле скале (за сваки узорак одрђена је одговарајућа нијанса боје на сиво белој скали и израчуната њихова средња вредност). На овај начин рендгенконтрасност изражавамо у јединицима дебљине алуминијума.



Слика бр. 15. Радиографски приказ еталона од алуминијума и узорак цемента.

3.8 Анализа антибактеријских својстава

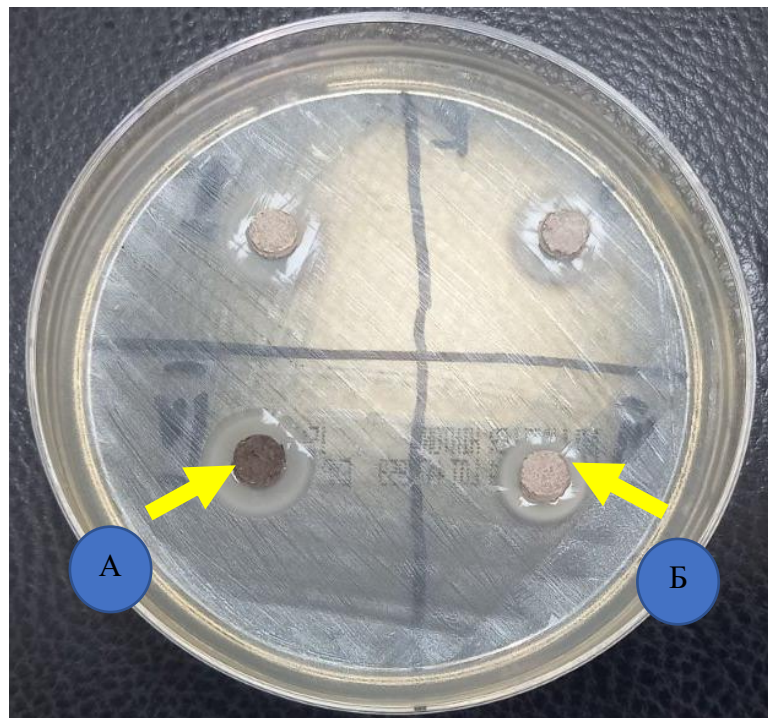
Утицај модификације на антибактеријске карактеристике испитиваних цемента аналиран је модификованим агар дифузионом тестом. Референтни сој *E. faecalis* (ATCC 29212), као и два лабораторијска соја ванкомицин-резистентни *E. faecalis*, коришћени су за процену антимицробне активности модификованих узорака МТА цемента. За тестирање антибактеријских карактеристика направљени су узорци цемента облика диска, пречника 5 mm и дебљине 3 mm. Сви материјали су стерилисани ултраљубичастим светлом у трајању од 1 сат пре употребе. Након припреме, дискови су подељени у две групе. Прва група је постављена на припремљене плоче (петријеве шоље) непосредно након мешања, док је друга група постављена након потпуног везивања узорака цемента (више од 3 сата након мешања). Течне културе *E. faecalis* засејаване су на чврсте нутритивне подлоге. За култивацију бактерија коришћен је крвни агар са 5% овчије крви (*Oxoid GmbH, Wesel*, Немачка). Инокулисане плоче инкубиране су на 36–37 °C у аеробним условима током 24 часа.

Антимицробна активност је процењена модификованим агар дифузионом тестом, у складу са препорукама Европског комитета за тестирање осетљивости на антимицробне агенсе (енгл. *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST*) (93). За припрему суспензије микроорганизама, 2–3 колоније *E. faecalis*

сакупљене су са чврсте подлоге након 24 часа инкубације помоћу стерилне омчице. Колоније су ресуспендоване у физиолошком раствору до густине од 0,5 McFarland, што одговара почетној бактеријској концентрацији од приближно 10^8 CFU/mL (енгл. *Colony-Forming Unit*). Густина инокула проверена је денситометром (*DEN1, BioSan, P. Летонија*). Петнаест минута након припреме, суспензија је равномерно нанесена на површину *Mueller–Hinton* агара (*Liophilchem, Италија*) помоћу стерилног бриса. Дискови који садрже узорке цемента, заједно са папирним дисковима који служе као негативне контроле, постављени су на површину агара стерилним пинцетама. Плоче су затим инкубирани на 36 °C у аеробним условима са 4–6 % CO₂, а резултати су очитани након 24 часа. Зоне инхибиције мерене су са удаљености од 30 cm под углом од 45°.

Сви сојеви *Enterococcus spp.* додатно су тестирани на осетљивост према стандардним антимикуробним агенсима методом диск-дифузије (ампицилин 10 µg, амоксицилин 20 µg, линезолид 10 µg и ванкомицин 30 µg; (*Bio-Rad, Уједињено Краљевство*)). Ванкомицин је коришћен као позитивна контрола, док су папирни дискови импрегнирани физиолошким раствором служили као негативна контрола.

Експеримент је изведен у трипкату, са дисковима постављеним одмах након припреме и након више од 3 часа (када су дискови били везани). Резултати су приказани као средње вредности пречника зона инхибиције (у mm) око дискова цемента (заједно са одговарајућим граничним вредностима) (Слика 16). Зоне инхибиције и дифузије јасно су уочљиве (Слика 16). Зона инхибиције око дискова цемента идентификована је потпуним одсуством бактеријског раста (Слика 16). Зоне дифузије око дискова цемента код референтног соја сличне су зонама инхибиције, при чему су зоне дифузије исте величине или за 2 mm веће у односу на зоне инхибиције (Слика 16).



Слика 16. На слици је приказан антимикуробни ефекат тестираних узорака цемента модификованим агар дифузионом тестом. (А) представља зону инхибиције, док (Б) представља зону дифузије.

3.9 Испитивање биокомпатибилности

Процена утиција модификованог МТА цемента зеолитом на биокомпатибилност, анализирана је МТТ тестом (енгл. *3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyl tetrazolium bromide*), односно мерењем цитотоксичног ефекта на хуманим фибробластима (MRC-5 енгл. *Medical Research Council cell strain 5*). Ћелије MRC-5 набављене из Америчке колекције културних сојева (*American Type Culture Collection, Manassas, ATCC VA, САД*). Ове ћелије култивисане су на DMEM (енгл. *Dulbecco's Modified Eagle Medium, Sigma Aldrich, Немачка*) хранљивој подлози обогаченој 10% феталним говеђим серумом (енгл. *Fetal Bovine Serum, FBS, Sigma Aldrich, Немачка*), пеницилином (100 IU/mL), стрептомицином (100 µg/mL) у влажној атмосфери са 5% CO₂ на 37 °C. Када су ћелије достигле субконфлуенцију и налазиле се у фази логаритамског раста, сакупљене су краткотрајним третманом са 0,25% трипсина и 0,02% EDTA у фосфатном пуферу (енгл. *Phosphate-buffered saline, PBS, Sigma Aldrich, Немачка*). Након сакупљања, ћелије су три пута испиране фосфатним пуфером без серума. Број виталних ћелија одређен је помоћу *trypan blue* теста, методом ислучења.

Узорци цемента (облика диска, пречника 5mm и дебљине 3mm) остављени да везују 24 часа у влажној атмосфери, под асептичним условима. Одмах након везивања, узорци су извађени из калупа и третирани су ултраљубичастом светлосићу 15 минута ради спречавања бактеријске контаминације. Након тога, смештени су у плоче са 24 бунара које су садржале 1,1 ml DMEM-а (*Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, САД*) без феталног говеђег серума. Узорци потопљени у DMEM инкубирани су под претходно описаним условима 24 часа. Након инкубације, елуати су одвојени и даље коришћени за процену цитотоксичности. Ћелије култивисане у дестилованој води служиле су као позитивна контрола, док су раствори културне подлоге коришћени као негативна контрола.

Ефекти узорака цемента на вијабилност (виталност) ћелија одређени су МТТ колориметријским тестом. MRC-5 ћелије су ресуспендоване у комплетном медијуму, док је 1×10^4 ћелија додато у сваки бунар плоче. Након центрифугирања, плоче су инкубиране преко ноћи. Следећег дана супернатант је уклоњен, а елуати добијени од цемента додати су у сваки бунар. Ћелије су потом инкубиране у влажној атмосфери са 5% CO₂ на 37 °C током 24 и 72 часа. По истеку инкубације, супернатант је уклоњен, а у сваки бунар је додато је још 15% МТТ раствора (5 mg/mL у PBS-у, 10 µL) у DMEM подлози без FBS. Плоче су затим инкубиране додатна 4 часа у влажној атмосфери са 5% CO₂ на 37 °C Након ове инкубације, МТТ медијум је уклоњен, а додат је DMSO (енгл. *Dimethylsulfoxide*) (150 µL) са глицеринским пуфером (20 µL) ради растварања кристала. Плоче су мућкане 10 минута, а оптичка густина сваког отвора је измерена је на 595 nm помоћу *Zenyth 3100 Multimode (Anthos Labtec, Холандија)* детектора за микроплоче. Процент цитотоксичности израчунат је на следећи начин: % цитотоксичности = $100 - ((E - B) / (C - B) \times 100)$, где B представља апсорбанцу контролне групе, C укупну вијабилност/спонтану смрт нетретираних ћелија, а E апсорбанцу експерименталне групе. Експерименти су изведени у трипликату, у складу са препорукама ISO 10993-5 (2009).

3.10 Процена рубног заптивања

Маргинална адаптација апикотомираних и ретроградно оптуруираних једнокорених зуба процењена је уз помоћ СЕМ-а где је на основу микрофотографија анализирана контактна површина између модификованих цемента и зубне супстанце. Након екстракције зуба (извађени у локалној анестезији услед узрапредовале пародонтопатије) спроведено је детаљано физичко чишћење корена и крнунице зуба уз помоћ пародонталних и хируршких кирета како би се уклонило заостало патолошко или физиолошко ткиво. После детаљног чишћења и анализе екстрахованог зуба (да зуб није оштећен, да нема ресорпцију на неком од делова корена, и одсуство каријеса корена) извршило се је потапање очишћених зуба у раствор 10 % формалина у периоду од 7 дана. Потом се је приступило припреми зуба, односно ендодонтској обради канала корена машинским (*FKG RACE EVO*, Швајцарска, 800-1000 обртаја у минути, 1.5 Ncm) инструментима и његовој дефинитивној оптурацији гутаперком (кониčnost 4% или 6%, величине 25) и пастом (материјал за пуњење на бази епокси смоле *ADSEAL, META BIOMED*, Р. Кореја). Након детаљне припреме зуба и везивање пасте за дефинитивну оптурацију извршена је радиолошка провера хомогености дефинитивне оптурације ретроалволарним радиограмом. Орално хируршка интервенција - апикотомија, спроведена је танким фисурним карбидним борерима монтираних на хируршком колењаку (број обртаја до 10000 у минути) уз адекватно и постепено хлађење физиолошким раствором. Врх корена је пресечен под правим углом у односу на уздужну осу зуба, у дужини од приближно 2–3 mm. Након тога се ултразвучним инструментом (*EMS AIR FLOW MASTER PIEZON*, Швајцарска) формиран ретрокавитет дубине 2–3 mm, како би се апликовао комерцијални и модификовани МТА цемент. Апликација цемента у ретрокавитет се је одвијала уз помоћ грацилних стоматолошких и хируршких инструмената под контролом ока, како би што верније измитирали клиничке услове у којима се свакодевно изводе ове сложене оралнохируршке интервенције.

Узорци апексно оптуруираних једнокорених зуба су уз помоћ црвене дијаманске шајбне пречника дебљине 0,2 mm издужно пресечени како би могли да се анализирају (Слика 17). Пресецање је извршено пажљиво са минималним притиском како не би дошло до физичког оштећења зубне супстанце и материјала за ретроградну оптурацију уз обилно хлађе физиолошким раствором како би се избегла термичка оштећења. Уздужни пресеци зуба су затим у одоварајућим калупима који су дизајнирани за СЕМ заливени епокси смолом (Слика 18). Пошто је зубна супстанца лош проводник електрона, додатно је извршено напуњавање танким слојем злата који има одличну проводљивост и не подлеже оксидацији. За испитивање микропукотине на споју материјала за ретроградну оптурацију и дентина корена зуба претодно ретроградно испрепарисаног коришћен је СЕМ (Слика 19) (*JEOL JSM-7001F*, Јапан). Анализе су извршене у високом вакууму (приближно 10⁻⁴ Pa), при напон убрзања електрона од 20 kV, јачини струје електронског снопа од приближно 10 nA и радној дистанци од 10 mm. За испитивање узорке добијени су снимци у моду повратно-ресејаних електрона (BSE, од енг. backscattered electrons), при увеличању до 1000×.



Слика 17. Уздужни пресек зуба



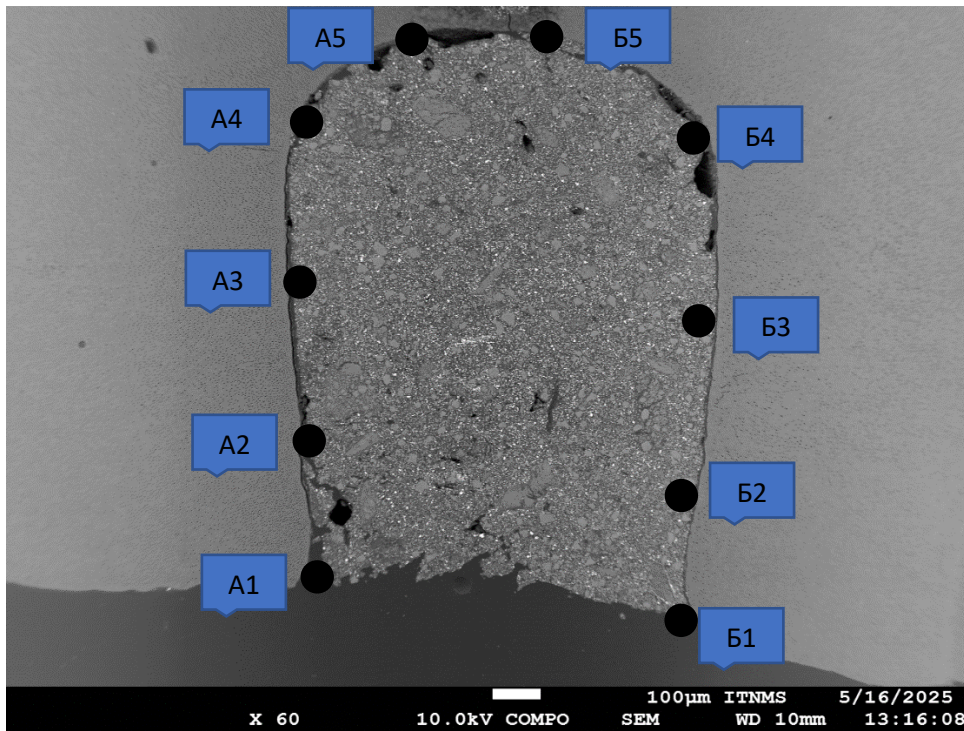
Слика 18. Узорци заливени смолом



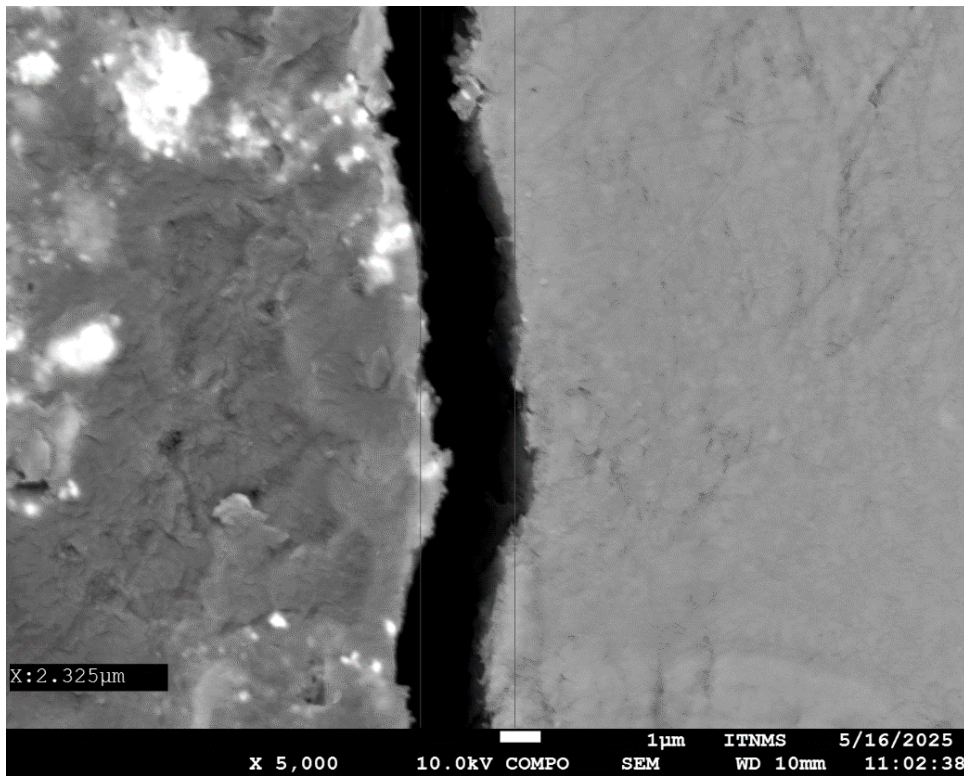
Слика бр. 19. На слици је приказан СЕМ микроскоп Института за Технологију Нуклеарних и других Минералних сировина у Београду.

Мерење растојања (Слика 20) између модификованих и немодификованих цемента за ретроградну оптурацију и зубне супстанце извршено је у програмском пакету *ImageJ*. Мерење маргиналне пукотине (у μm) (Слика 21) обављено је на пет означених тачака са обе стране узорка. Распоред тачака дефинисан је тако да тачке 1а и 5а представљају горњу и доњу границу испитиваног препарата. Тачка 3а

позиционирана је на средини растојања између тачака 1а и 5а, док су тачке 2а и 4а постављене на средини између 1а и 3а, односно 3а и 5а. Тачке 1б–5б налазе се на супротној страни узорка.



Слика 21. Приказане су тачке за анализу маргиналне адаптације.



Слика 21. На слици се види микропукотина која износи 2,325 µm измерена на СЕМ микроскопу директним методом.

3.11 Процена имуномодулаторних ефеката - *In Vitro*

На основу претходних анализа, проширили смо истраживање како бисмо истражили имуномодулаторне ефекте МТА цемента модификованог зеолитом. Утврђено је да је овај тип модификације идеалан за даљу процену због изузетно ниске цитотоксичности и добрих антимикробних својстава. Имуномодулаторне ефекте МТА цемента модификованог зеолитом испитани су анализом синтезе цитокина од стране спленоцита. Слезина је асептично уклоњена и смештена у петри посуде које су садржале 5 mL RPMI 1640 (енгл. *Roswell Park Memorial Institute*) подлоге обogaћене са 10 % феталног говеђег серума (FBS) и 1 % пеницилин-стрептомицина. Користећи клип шприца, слезина је благо потиснута кроз цедиљку за ћелије (*BD Pharmingen*, САД) у епрувету од 50 mL, у коју је потом додато још 5 mL RPMI подлоге (са 5 % FBS). Садржај епрувете је затим пребачен у епрувету од 15 mL и центрифугиран на 300 G током 5 минута. Након центрифугирања, супернатант је одбачен, а ћелијски талог је третиран лизним раствором који је садржао 4 mg EDTA (Етилендиаминтетрасирћетна киселина), 100 mg NaHCO₃ и 826 mg NH₄Cl у 100 mL дестиловане дејонизоване воде (dd H₂O). Раствор је инкубиран на леду 5 минута како би се осигурала лизе. За прекид лизе додата је RPMI-1640 подлога са 10 % FBS. Након поновног центрифугирања, талог је ресуспендован у 8 mL RPMI-1640 подлоге са 10 % FBS. Да би се спречила контаминација спленоцита хистиоцитима, ћелије су још једном пропуштене кроз цедиљку за ћелије. Вијабилност ћелија је процењена уз помоћ *trypan blue* теста под светлосним микроскопом, и само суспензије са више од 90 % виталних ћелија коришћене су у даљим експериментима.

Да би се испитао утицај МТА цемента модификованог зеолитом на продукцију цитокина од стране спленоцита, спленоцити су прво изоловани од здравих BALB/с мишева, пратећи претходно описане протоколе. Укупан број ћелија одређен је након прављења разблажења 1:10 трипан плавог. У експериментима су коришћене само ћелије са више од 95% вијабилности. Спленоцити су потом засејавани у микротитар плоче у концентрацији од 1×10^6 ћелија по бунару и подељени у четири групе: једна група инкубирана са комплетним медијумом, друга група стимулирана је конканавалином А (енгл. *Concanavalin A*, ConA), познатим активатором Т-лимфоцита (0,5 µg/mL), трећа група третирана МТА цементом модификованим зеолитом, а четврта група је примила комбинацију МТА цемента модификованог зеолитом и ConA. Ћелије су инкубирани 24 часа на 37 °C у влажној атмосфери са 5% CO₂. По завршетку инкубације, вијабилност ћелија је процењена *trypan blue* тестом и у свим групама је била изнад 90%, без значајних разлика. Након инкубације, ћелије су центрифугиране, супернатанти су сакупљени и чувани на -80 °C до даље анализе. Концентрације цитокина IL-1β, TNF-α, IFN-γ, IL-17 и IL-10 мерени су коришћењем ELISA теста (енгл. *enzyme-linked immunosorbent assay*) високе осетљивости компаније (*R&D Systems*, САД), према упутствима произвођача.

3.12 Статистичка обрада података

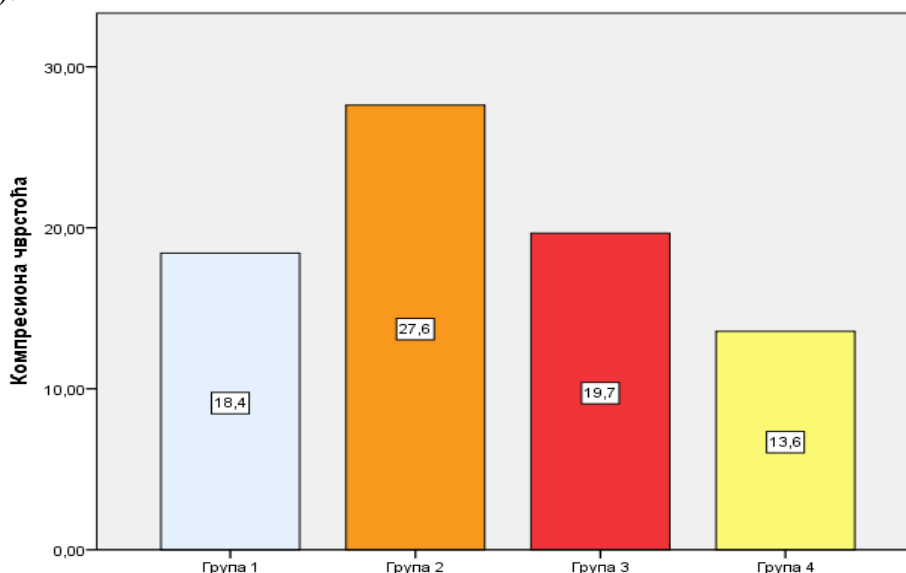
Статистичка обрада података урађена је помоћу софтвера *SPSS v26.0* (*SPSS Inc., Chicago, IL*, САД). Ниво статистичке значајности постављен је на $p < 0,05$. Дескриптивна статистика обухватила је параметарске (средња вредност, стандардна

девијација, минимум, максимум) и непараметарске мере (медијана, Q1, Q3, IQR) за све посматране варијабле. Нормалност расподеле података проверавана је помоћу *Shapiro–Wilk* теста, на основу којег је процењена нормалност расподеле. За варијабле са нормалном дистрибуцијом коришћена је једносмерна *ANOVA*, а уз претходну проверу хомогености варијанси примењен је и одговарајући пост-хок тест (*Tukey HSD* или *Games–Howell*). За варијабле које нису пратиле нормалну дистрибуцију коришћен је *Kruskal–Wallis* тест, а у случају добијања статистички значајних разлика између група, спровођена је пост-хок анализа *Mann–Whitney U* тестом уз *Bonferroni* корекцију. За поређење вредности између леве и десне стране пукотина ретроградно оптурираних зуба примењен је *Wilcoxon signed-rank* тест, док је повезаност између променљивих процењивана *Spearman rang* корелацијом. Примењен је и Студентов *t*-тест за ниво концентрације цитокина. Добијени резултати истраживања приказани су табеларно или графички.

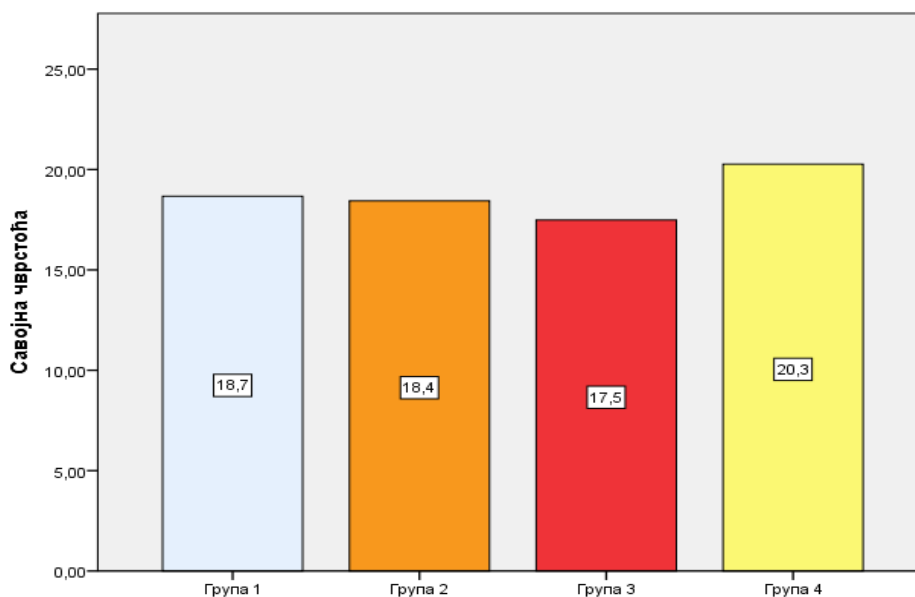
4. РЕЗУЛТАТИ

4.1 Резултати анализе компресионе и савојне чврстоће

На основу *Shapiro–Wilk* теста утврђено је да варијабла савојна чврстоћа прати нормалну дистрибуцију, док испитивана вредност компресиона чврстоћа значајно одступа од нормалне расподеле ($p < 0,05$). Просечна вредност савојне чврстоће износила је $18,71 \pm 1,11$ МПа, док је просечна вредност компресионе чврстоће била $19,82 \pm 5,12$ МПа (Фигура 1 и Фигура 2). За утврђивање разлика између група за компресиону чврстоћу коришћен *Kruskal–Wallis* тест који је показао статистичку значајност између група ($p = 0,000$), што значи да модификација цемента утиче на вредност мереног параметра. Пост-хок *Mann–Whitney U* тест ($p < 0,001$) је показао значајне разлике у компресионој чврстоћи између свих група (Табела 10). Једносмерна *ANOVA* тест је показала ($F = 58,438$, $p < 0,001$) значајне разлике у савојној чврстоћи између група, што значи да састав цемента значајно утиче на савојну чврстоћу. Пост-хок тест *Tukey HSD* ($p = 0,000$) је показао да постоји статистички значајна разлике између група цемента (Табела 11).



Фигура 1. Просечне вредности компресионе чврстоће према групама цемента



Фигура 2. Просечне вредности савојне чврстоће према групама цемента

Поређење група	Median A (IQR)	Median B (IQR)	Mean Rank A	Mean Rank B	Mann-Whitney U	Z	p-vrednost
Група 1 vs Група 2	18,300 (0,72)	27,700 (0,57)	5,50	15,50	0,000	- 3,780	<0,001
Група 1 vs Група 3	18,300 (0,72)	19,780 (0,83)	5,70	15,30	2,000	- 3,628	<0,001
Група 1 vs Група 4	18,300 (0,72)	13,560 (0,75)	15,50	5,50	0,000	- 3,780	<0,001
Група 2 vs Група 3	27,700 (0,57)	19,780 (0,83)	15,50	5,50	0,000	- 3,780	<0,001
Група 2 vs Група 4	27,700 (0,57)	13,560 (0,75)	15,50	5,50	0,000	- 3,780	<0,001
Група 3 vs Група 4	19,780 (0,83)	13,560 (0,75)	15,50	5,50	0,000	- 3,780	<0,001

Табела 10. У табели је приказан *Mann–Whitney U* тест за компресиону чврстоћу.

Анализа *Mann–Whitney U* тестом показала је значајне разлике у компресионој чврстоћи између свих поређених група ($p < 0,001$), осим код поређења које није статистички значајно (нема таквих у овом сету). Група 1 показује знатно нижу компресиону чврстоћу у поређењу са групом 2 (модификација зеолитом клиноптилолитом), док група 4 (модификација применом зеолита клиноптилолита модификованог јонима Ag и Zn) има најнижу медиану и IQR, што јасно разликује ову групу од других.

Варијабла	Групе	Mean Diff.	Std. Error	Sig.	95% CI (Lower–Upper)
Савојна чврстоћа (Tukey HSD)	Група 1 – Група 3	-1,183	0,214	0,000	-1,758 – -0,608
	Група 1 – Група 4	1,599	0,214	0,000	1,024 – 2,174
	Група 2 – Група 3	-0,953	0,214	0,000	-1,528 – -0,378
	Група 2 – Група 4	1,829	0,214	0,000	1,254 – 2,404
	Група 3 – Група 4	2,782	0,214	0,000	2,207 – 3,357

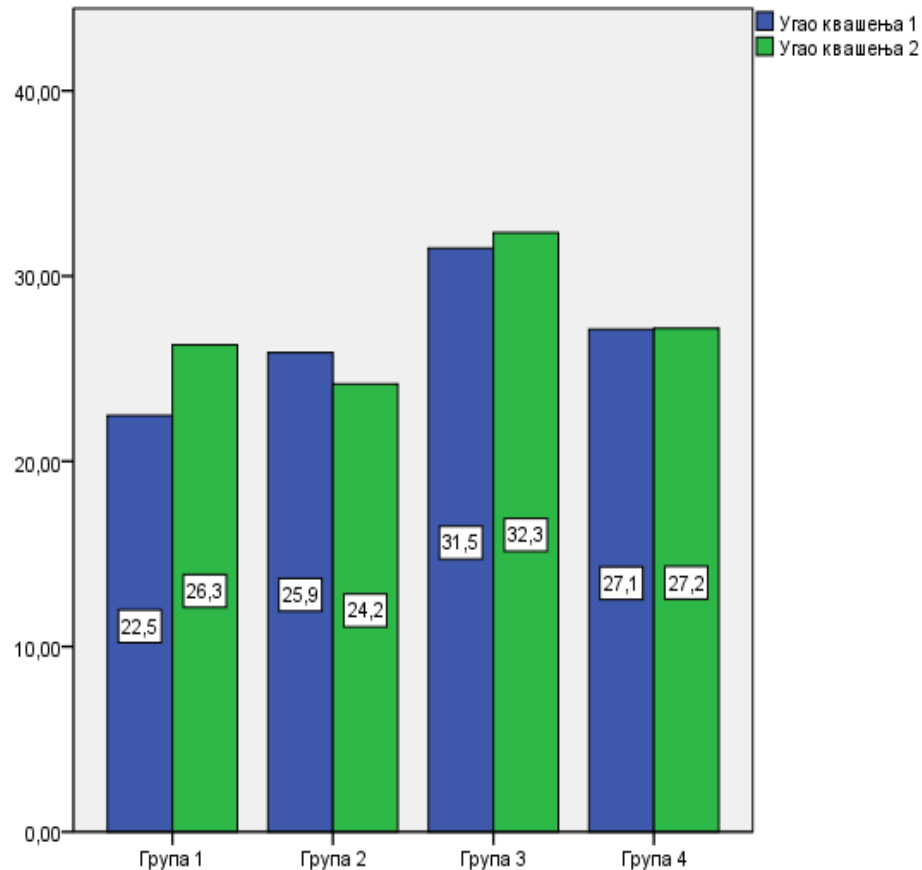
Табела 11. У табели је приказан *Tukey HSD* за савојну чврстоћу.

Резултати *Tukey HSD* теста ($p=0.000$) су показали да постоји статистички значајна разлике између следећих група испитиваних цемента: група 1 – група 3, група 1 – група 4, група 2 – група 3, група 2 – група 4, група 3 – група 4.

4.2 Резултати анализе угла квашења

Средња вредност угла квашења 1 у групи 1 износила је $22,47 \pm 1,70$, у групи 2 $25,87 \pm 1,58$, у групи 3 $31,49 \pm 2,81$, а у групи 4 $27,12 \pm 1,37$. Средња вредност угла квашења 2 у групи 1 износила је $26,28 \pm 1,78$, у групи 2 $24,17 \pm 3,11$, у групи 3 $32,34 \pm 1,16$, а у групи 4 $27,17 \pm 1,21$ (Фигура 3). *Shapiro–Wilk* тестом утврђено је да варијабла угао квашења 2 прати нормалну дистрибуцију, док варијабла угао квашења 1 значајно

одступа од нормалне расподеле ($p < 0,05$). Једносмерна ANOVA тест показала је да постоји статистички значајна разлика у углу квашења 2 између група ($F=30,592$; $p < 0,001$). Пост-хок *Games–Howell* тест показао је статистички значајне разлике између појединих група цемента (Табела 12). За утврђивање разлика у углу квашења 1 између група коришћен је *Kruskal–Wallis* тест, који је показао статистички значајну разлику ($p < 0,001$), што указује да тип цемента, односно начин модификације, утиче на вредност ове варијабле. Пост-хок *Mann–Whitney U* тест ($p < 0,001$) показао је значајне разлике у углу квашења 1 између већег броја група цемента, осим између групе 2 и групе 4 (Табела 13).



Фигура 3. Просечне вредности углова квашења 1 и 2 према групама цемента. Вредности углова квашења 1 и 2 у већини група модификованих цемента су били већи у односу на групу цемента који није модификован. Угао квашења 2, код модификације са зеолитом-клиноптилиолитом, имао је мањи угао квашења у односу на немодификовану групу цемента.

Варијабла	Групе	Mean Diff.	Std. Error	Sig.	95% CI (Lower–Upper)
Угао Квашења 2 (<i>Games–Howell</i>)	Група 1 – Група 3	-6,056	0,886	0,000	-8,444 – -3,669
	Група 1 – Група 3	2,106	0,886	0,100	-0,281 – 4,493
	Група 1 – Група 4	-0,889	0,886	0,749	-3,276 – 1,498
	Група 2 – Група 3	-8,162	0,886	0,000	-10,549 – -5,775
	Група 2 – Група 4	-2,995	0,886	0,009	-5,382 – -0,608
	Група 3 – Група 4	5,167	0,886	0,000	2,780 – 7,554

Табела 12. У табели је приказан *Games–Howell* тест за угао квашења 2.

Резултати *Games–Howell* теста су забележили статистички значајну разлику између следећих парова: група 1– група 3 (-6.056 , $p=0.000$), група 2 – група 3 (-8.162 , $p=0.000$), група 2 – група 4 (-2.995 , $p=0.009$) и група 3 – група 4 (5.167 , $p=0.000$). Између парова група 1 – група 2 и група 1 – група 4 нема статистички значајне разлике ($p>0.05$).

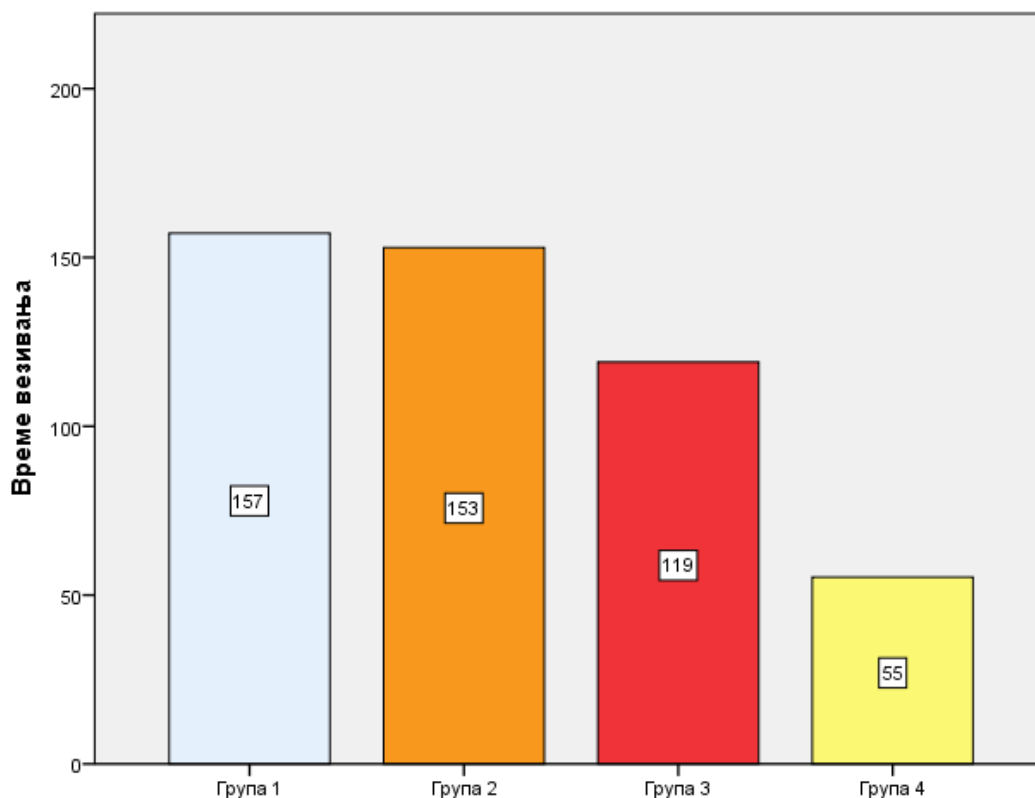
Поређење група	Median A (IQR)	Median B (IQR)	Mean Rank A	Mean Rank B	Mann-Whitney U	Z	p-vrednost
Група 1 vs Група 2	22,135 (1,39)	25,720 (1,40)	6,40	14,60	9,000	-3,099	0,002
Група 1 vs Група 3	22,135 (1,39)	32,125 (0,84)	5,60	15,40	1,000	-3,704	<0,001
Група 1 vs Група 4	22,135 (1,39)	27,645 (2,63)	5,90	15,10	4,000	-3,477	0,001
Група 2 vs Група 3	25,720 (1,40)	32,125 (0,84)	6,50	14,50	10,000	-3,024	0,002
Група 2 vs Група 4	25,720 (1,40)	27,645 (2,63)	8,30	12,70	28,000	-1,663	0,096
Група 3 vs Група 4	32,125 (0,84)	27,645 (2,63)	14,50	6,50	10,000	-3,024	0,002

Табела 13. У табели је приказан *Mann–Whitney U* тест за угао квашења 1.

Пост-хок *Mann–Whitney U* тест показао је да постоји значајна разлика у углу квашења 1 између већине поређених група ($p\leq 0,002$). Конкретно, група 1 има значајно мањи угао квашења 1 у поређењу са свим модификованим формулацијама. Група 2 која је модификована зеолитом-клиноптилолитом, такође показује значајну разлику у односу на модификације са зеолитом-клиноптилолитом модификованог ZrO_2 и са зеолитом-клиноптилолитом модификованог Ag и Zn . Не постоји статистичка значајна разлика између модификација цемента зеолитом-клиноптилолитом и модификације цемента зеолитом-клиноптилолитом модификованог Ag и Zn ($p=0,096$). Медиане и интерквartilни распони показују јасну тенденцију: Модификација цемента додавањем немофициованог или модификованог зеолита-клиноптилолита (5% од укупног масеног удела) повећава угао квашења, а *mean rank* вредности потврђују да су групе са већим медианима увек рангиране више.

4.3 Резултати анализе времена везивања

Просечно време везивања цемента износило је $121,10\pm 41,31$ мин (Фигура 4). Резултати *Kruskal–Wallis* теста за време везивања цемента показују статистичку значајност између група ($p=0,000$), што значи да врста цемента, односно састав цемента директно утиче на вредност време везивања. Анализа пост-хок *Mann–Whitney U* тестом (Табела 14) показала је да постоји значајна разлика у времену везивања између свих поређених група ($p<0,001$). Конкретно, група 1 је имала значајно дуже време везивања у односу на све модификоване формулације цемента, док су и све модификоване групе међусобно значајно различите. Медиане и интерквartilни распони јасно показују да додаток природног зеолита-клиноптилолита, зеолита-клиноптилолита модификованог ZrO_2 или зеолита-клиноптилолита модификованог Ag и Zn смањује време везивања. Најкраће време везивања забележено код цемента који садржи зеолит-клиноптилолит модификован Ag и Zn . Резултати рангирања потврђују ову разлику, јер су *mean rank* вредности увек знатно веће за групу са дужим временом везивања.



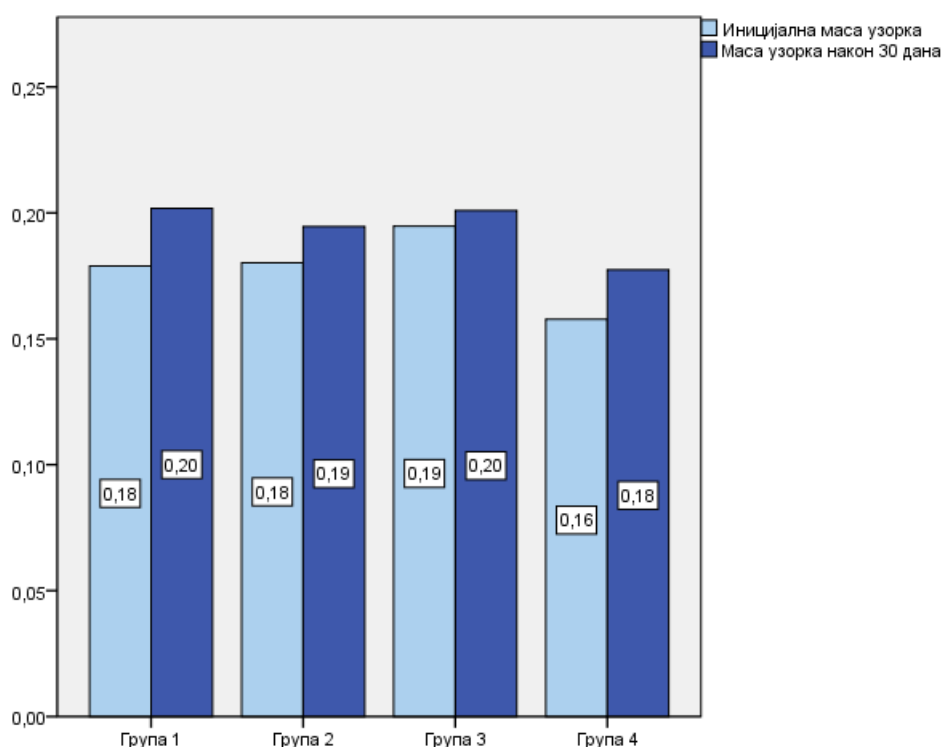
Фигура 4. Просечне вредности времена везивања према групама цемента. Просечно време везивања за групу 1 износи 157.2 ± 1.93 мин., за групу 2 152.90 ± 1.85 мин., за групу 3 119 ± 0.82 мин., и за групу 4 55.3 ± 1.25 мин.

Поређење група	Median A (IQR)	Median B (IQR)	Mean Rank A	Mean Rank B	Mann-Whitney U	Z	p-vrednost
Група 1 vs Група 2	157,5 (3)	153,0 (4)	15,00	6,00	5,000	- 3,422	<0,001
Група 1 vs Група 3	157,5 (3)	119,0 (2)	15,50	5,50	0,000	- 3,810	<0,001
Група 1 vs Група 4	157,5 (3)	55,0 (2)	15,50	5,50	0,000	- 3,801	<0,001
Група 2 vs Група 3	153,0 (4)	119,0 (2)	15,50	5,50	0,000	- 3,814	<0,001
Група 2 vs Група 4	153,0 (4)	55,0 (2)	15,50	5,50	0,000	- 3,805	<0,001
Група 3 vs Група 4	119,0 (2)	55,0 (2)	15,50	5,50	0,000	- 3,823	<0,001

Табела 14. У табели је приказан *Mann-Whitney U* тест за време везивања.

4.4 Резултати анализе растворљивости

Средња растворљивост модификованих и немодификованих цемента је углавном остала стабилна између дана 0 и дана 30, са малим променама у средњим вредностима (Фигура 5). Група 1 је показала благо повећање масе ($Mean\ Difference = -0,02286$, $p < 0,001$), док је цемент модификован зеолитом-клиноптилолитом имао сличну, такође статистички значајну промену ($Mean\ Difference = -0,01435$, $p < 0,001$). Растворљивост групе 3 цемента који садржи зеолит-клиноптилолит модификован ZrO_2 није показао значајне промене ($Mean\ Difference = -0,00619$, $p = 0,762$), док је цемент који садржи зеолит-клиноптилолит модификован Ag и Zn имао повећање масе које је статистички значајно ($Mean\ Difference = -0,01961$, $p < 0,001$). Коefицијенти парне корелације између вредности на дан 0 и дан 30 варирају од веома слабих до умерених, при чему ниједна од корелација није статистички значајна.

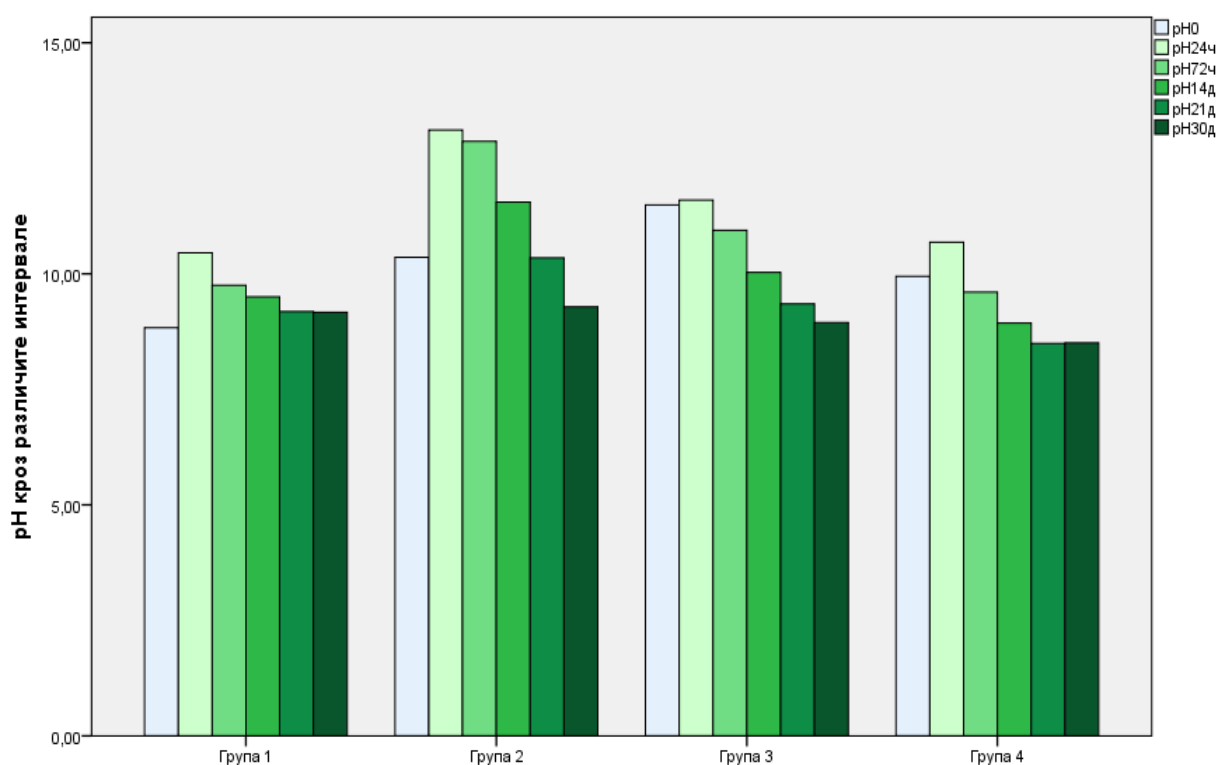


Фигура 5. Просечне вредности масе узорка, иницијално и након 30 дана, према групама цемента.

4.5 Резултати анализе рН вредности

рН вредности је испитивана у временском интервалу од 30 дана, са прављењем пресека непосредно након везивања цемента, затим након 24 сата, 72 сати, 14 дана, 21 дан и 30 дана (Фигура 6). Варијабла рН вредност након 30 дана прати нормалну расподелу, док остале варијабле одступају од нормалне расподеле ($p < 0,05$). Резултати једносмерне ANOVA показали су значајне разлике између четири групе за испитивану варијаблу рН вредност након 30 дана ($F=14,553$, $p < 0,001$), што показује да су модификације цемента директно повезане са променама рН вредности у функцији времена. Пост-хок тест *Games-Howell* је показао статистички значајну разлика између појединих група ($p < 0,05$) за варијаблу рН вредност након 30 дана (Табела 15).

Резултати *Kruskal–Wallis* теста за рН вредност (0, 24 и 72 сати; 14 и 21 дан) показују статистичку значајност између група ($p=0,000$), што значи да постоји утицај модификације цемента на рН вредност у тим временским интервалима. Анализа пост-хок *Mann–Whitney U* тестом показала је да постоји значајна разлика у рН вредности модификованог и немодификованог цемента ($p<0,001$) (Табела 16), која је процењивана у пет временских тачака (непосредно након везивања, након 24 сати, након 72 сати, након 14 дана и након 21 дан). Медијани и интерквartilни опсези током свих временских тачака потврдили су налазе средњих рангова, показујући константно већи алкални ефекат модификованих формулација у односу на немодификовани цемент. Укупно, резултати указују да додаток зеолита-клиноптилолита, зеолита-клиноптилолита модификованог ZrO_2 или зеолита-клиноптилолита модификованог Ag и Zn значајно повећава рН вредност немодификованог цемента, током времена, при чему су највеће разлике забележене у раним мерењима.



Фигура 6. Просечне вредности рН у различитим периодима према групама цемента

Варијабла	Групе	Mean Diff.	Std. Error	Sig.	95% CI (Lower–Upper)
рН 30 дана (<i>Games–Howell</i>)	Група 1 – Група 4	-0,661	0,127	0,003	-1,092 – -0,318
	Група 2 – Група 4	-0,780	0,128	0,000	-1,038 – -0,437
	Група 3 – Група 4	-0,441	0,069	0,000	-0,642 – -0,098

Табела 15. У табели је приказан *Games–Howell* тест за рН након 30 дана.

Games–Howell тест је показао статистички значајну разлику између следећих парова ($p<0,05$): Група 1 – Група 4 (-0.661 , $p=0.003$), Група 2 – Група 4 (-0.780 , $p=0.000$) и Група 3 – Група 4 (-0.441 , $p=0.000$). Просечан рН након 30 дана за групу 1 износи $9,17 \pm 0,42$, за групу 2 $9,28 \pm 0,32$, за групу 3 $8,95 \pm 0,09$, и за групу 4 $8,51 \pm 0,20$.

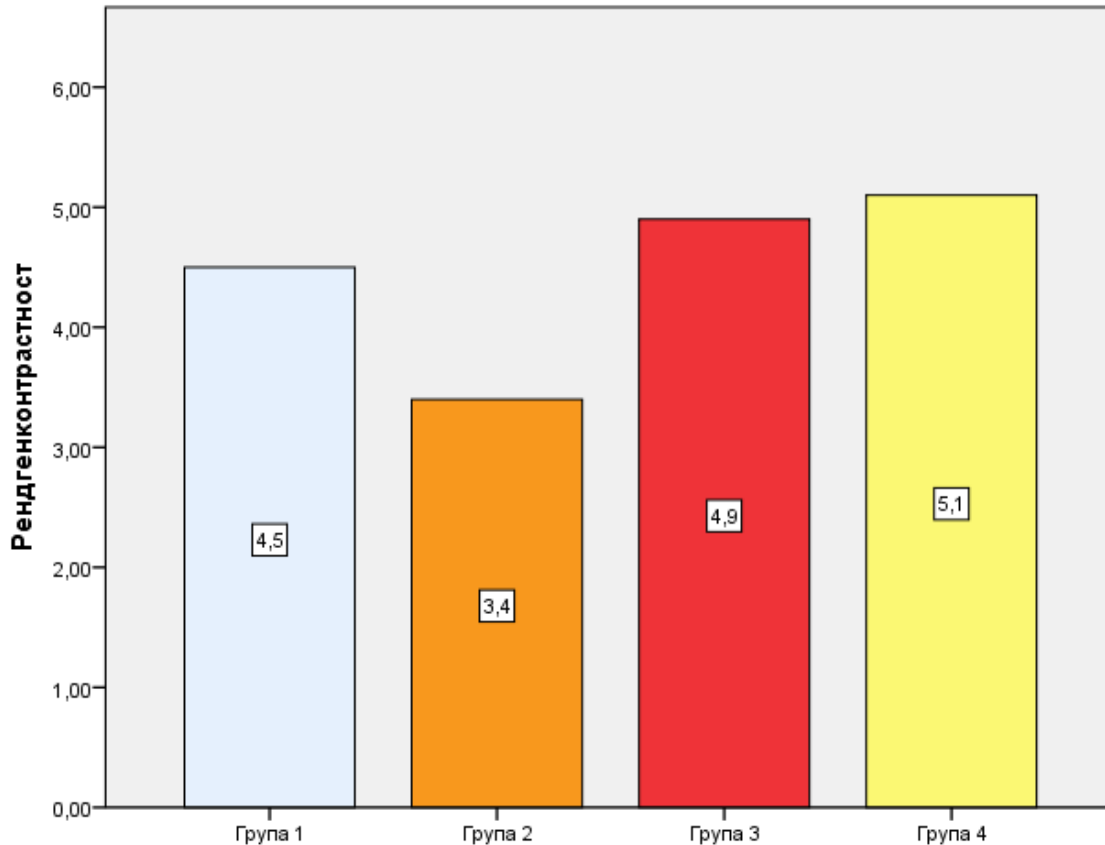
Временски интервал	Поређење група	Mean Rank A	Mean Rank B	Median A (IQR)	Median B (IQR)	Mann-Whitney U	Z	p-vrednost
0	Група 1 vs Група 2	5,50	15,50	8,880 (0,21)	10,345 (0,33)	0,000	-3,780	<0,001
24 сата	Група 1 vs Група 2	5,50	15,50	10,525 (0,39)	13,110 (0,24)	0,000	-3,780	<0,001
72 сати	Група 1 vs Група 2	5,50	15,50	9,845 (0,41)	12,905 (0,59)	0,000	-3,781	<0,001
14 дана	Група 1 vs Група 2	5,50	15,50	9,550 (0,31)	11,510 (0,29)	0,000	-3,780	<0,001
21 дан	Група 1 vs Група 2	5,50	15,30	9,130 (0,48)	10,025 (0,97)	0,000	-3,630	<0,001
0	Група 1 vs Група 3	5,50	15,50	8,880 (0,21)	11,520 (0,19)	0,000	-3,781	<0,001
24 сата	Група 1 vs Група 3	5,50	15,50	10,525 (0,39)	11,590 (0,22)	0,000	-3,780	<0,001
72 сати	Група 1 vs Група 3	5,50	15,50	9,845 (0,41)	10,960 (0,09)	0,000	-3,788	<0,001
14 дана	Група 1 vs Група 3	5,50	15,50	9,550 (0,31)	9,995 (0,16)	0,000	-3,781	<0,001
21 дан	Група 1 vs Група 3	8,30	12,70	9,130 (0,48)	9,348 (0,42)	28,000	-1,665	0,096
0	Група 1 vs Група 4	5,50	15,50	8,880 (0,21)	9,950 (0,10)	0,000	-3,780	<0,001
24 сата	Група 1 vs Група 4	5,50	15,50	10,525 (0,39)	10,815 (0,30)	20,000	-2,268	0,023
72 сати	Група 1 vs Група 4	12,85	8,15	9,845 (0,41)	9,645 (0,18)	26,500	-1,778	0,075
14 дана	Група 1 vs Група 4	15,20	5,80	9,550 (0,31)	8,940 (0,15)	3,000	-3,554	0,000
21 дан	Група 1 vs Група 4	15,50	5,50	9,130 (0,48)	8,485 (0,33)	0,000	-3,781	<0,001
0	Група 2 vs Група 3	5,50	15,50	10,345 (0,33)	11,520 (0,19)	0,000	-3,781	<0,001
24 сата	Група 2 vs Група 3	15,50	5,50	13,110 (0,24)	11,590 (0,22)	0,000	-3,781	<0,001
72 сати	Група 2 vs Група 3	15,50	5,50	12,905 (0,59)	10,960 (0,09)	0,000	-3,788	<0,001
14 дана	Група 2 vs Група 3	15,50	5,50	11,510 (0,29)	9,995 (0,16)	0,000	-3,780	<0,001
21 дан	Група 2 vs Група 3	15,30	5,70	10,025 (0,97)	9,348 (0,42)	2,000	-3,630	<0,001
0h	Група 2 vs Група 4	15,50	5,50	10,345 (0,33)	9,950 (0,10)	0,000	-3,516	<0,001
24 сата	Група 2 vs Група 4	15,50	5,50	13,110 (0,24)	10,815 (0,30)	0,000	-3,780	<0,001
72 сати	Група 2 vs Група 4	15,50	5,50	12,905 (0,59)	9,645 (0,18)	0,000	-3,780	<0,001
14 дана	Група 2 vs Група 4	15,50	5,50	11,510 (0,29)	8,940 (0,15)	0,000	-3,781	<0,001
21 дан	Група 2 vs Група 4	15,50	5,50	10,025 (0,97)	8,485 (0,33)	0,000	-3,781	<0,001
0	Група 3 vs Група 4	15,50	5,50	11,520 (0,19)	9,950 (0,10)	0,000	-3,781	<0,001
24 сата	Група 3 vs Група 4	15,50	5,50	11,590 (0,22)	10,815 (0,30)	0,000	-3,780	<0,001
72 сати	Група 3 vs Група 4	15,50	5,50	10,960 (0,09)	9,645 (0,18)	0,000	-3,788	<0,001
14 дана	Група 3 vs Група 4	15,50	5,50	9,995 (0,16)	8,940 (0,15)	0,000	-3,781	<0,001
21 дан	Група 3 vs Група 4	14,50	6,50	9,348 (0,42)	8,485 (0,33)	10,000	-3,026	0,002

Табела 16. У табели је приказан *Mann-Whitney U* тест за рН вредност непосредно након везивања, након 24 сати, након 72 сати, након 14 дана и након 21 дан.

Анализом *Mann–Whitney U* тестом на почетном мерењу, група 1 је имала значајно ниже средње рангове у поређењу са осталим групама ($p < 0,001$ за сва поређења), што указује на мањи иницијални пораст рН вредности. Сличне значајне разлике примећене су и анализом након 24 и 72 сата, при чему је група 1 конзистентно показивала ниже рН вредности од модификованих цемента ($p < 0,01–0,001$). Након 14 дана, разлика између групе 1 и групе 2 остала је статистички значајна ($p < 0,001$). У поређењу са групом 3 (модификација применом зеолита клиноптилолита модификованог ZrO_2), рН вредност је била нижа, док су разлике у поређењу са групом 4 (модификација применом зеолита клиноптилолита модификованог Ag и Zn) такође остале статистички значајне ($p < 0,001$). На 21 дан група 1 и даље је показивала ниже рН вредности у поређењу са већином модификованих група, уз нешто мању разлику у поређењу са цементима из групе 3 (модификација применом зеолита клиноптилолита модификованог ZrO_2) ($p = 0,096$).

4.6 Резултати анализе рендгенконтрасности

Kruskal–Wallis тест је показао да рендгенконтрасност показују статистичку значајност између група ($p = 0,000$), што значи да врста цемента утиче директно на рендгенконтрасност испитиваних материјала. Просечна рендгенконтрасност за групу 1 је износила $4,50 \pm 0,71$, за групу 2 $3,40 \pm 0,52$, за групу 3 $4,90 \pm 0,56$, док је за групу 4 износила $5,10 \pm 0,57$ (Фигура 7). *Mann–Whitney U* тестом показао је да постоји значајна разлика у рендгенконтрасности између група (Табела 17).



Фигура 7. Просечна рендгенконтрасност према групама цемента.

Поређење група	Median A (IQR)	Median B (IQR)	Mean Rank A	Mean Rank B	Mann-Whitney U	Z	p-vrednost
Група 1 vs Група 2	5,00 (1,00)	3,00 (1,00)	14,20	6,80	13,000	-2,966	0,003
Група 1 vs Група 3	5,00 (1,00)	5,00 (0,25)	9,10	11,90	36,000	-1,255	0,210
Група 1 vs Група 4	5,00 (1,00)	5,00 (0,25)	8,35	12,65	28,500	-1,918	0,055
Група 2 vs Група 3	3,00 (1,00)	5,00 (0,25)	5,90	15,10	4,000	-3,655	<0,001
Група 2 vs Група 4	3,00 (1,00)	5,00 (0,25)	5,70	15,30	2,000	-3,792	<0,001
Група 3 vs Група 4	5,00 (0,25)	5,00 (0,25)	9,65	11,35	41,500	-0,796	0,426

Табела 17. У табели је приказан *Mann-Whitney U* тест за рендгенконтраност.

Mann-Whitney U тест показује статистички значајну разлику у рендгенконтрасности између групе 1 (немодификованог цемента) и цемента модификованог зеолитом-клиноптилолитом ($p=0,003$), као и између цемента који је модификован зеолитом-клиноптилолитом и других формулација ($p<0,001$). Медиане и интерквartilни распони показују да је цемент модификован зеолитом-клиноптилолитом увек имао нижи контраст у поређењу са осталим модификацијама, док немодификовани цемент и друге модификације (модификација применом зеолита клиноптилолита модификованог ZrO_2/Ag и Zn) имају сличне медијане, што се потврђује и кроз *mean rank* вредности. Неке разлике између поређених група попут немодификованог цемента и цемента који у себи садржи зеолит-клиноптилолит модификован Ag и Zn , немодификованог цемента и цемента који у себи садржи зеолит-клиноптилолит модификован ZrO_2 нису статистички значајне што указује на сличну рендгенконтрасност ових група.

4.7 Резултати процене антимицробне активности

Проценили смо антимицробну активност модификованих и немодификованих цемента уз помоћ диск дифузионе методе са три соја *E. faecalis*: једним референтним сојем и два лабораторијска соја. Осетљивост ових сојева је претходно процењена на стандардне антимицробне лекове, што нам је омогућило да упоредимо њихову антимицробну активност са супстанцама које се тестирају. Тестирање осетљивости на стандардне антибиотике показало је да референтни сој, *E. faecalis ATCC 29212*, испуњава критеријуме које је утврдио EUCAST. Утврђено је да је референтни сој осетљив на ванкомицин, док су оба лабораторијска соја показала отпорност на овај антибиотик. Поред тога, лабораторијски сојеви су показали различиту осетљивост на друге антибиотике, што указује да представљају различите резистотипове (Табела 18).

	Референтни сој ATCC 29212	Лабораторијски сој 1	Лабораторијски сој 2	S ≥
Ванкомицин	14	6	6	12
Ампицилин	21	20	6	10
Амоксицилин	19	21	6	10
Линезолд	23	24	23	20

Табела 18. Пречник зоне инхибиције указује на осетљивост тестираног соја према смерницама EUCAST.

Антимикробни ефекти тестираних супстанци процењени су коришћењем диск дифузионе методе, где су зоне инхибиције и дифузије супстанци јасно уочљиве. Зона инхибиције која окружује дискове који садрже тестиране типове цемента идентификује се потпуним одсуством раста бактерија око дискова. Зоне дифузије за тестиране супстанце у референтном соју сличне су зонама инхибиције, при чему су зоне дифузије или исте величине или 2 mm веће од зона инхибиције (Табела 19). Међутим, значајне разлике су примећене код других сојева, посебно у групи 1, затим у групи 2 и у групи 3 где се разлике између две зоне крећу од 3 до 4 mm. Насупрот томе, у групи 4, пречници зона инхибиције и дифузије нису варирали ни код једног од тестираних сојева.

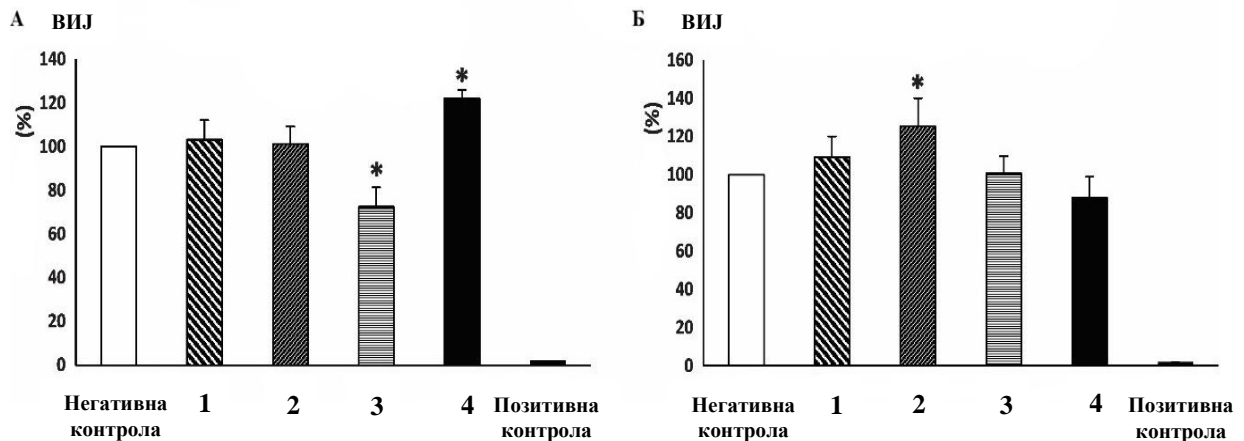
	Референтни сој ATCC 29212		Лабораторијски сој 1		Лабораторијски сој 2	
	ЗИ	ЗД	ЗИ	ЗД	ЗИ	ЗД
Група 1	10±1	12±1	8±1	11±1	7±1	11±1
Група 2	11±1	13±1	9±1	12±2	9±1	12±2
Група 3	12±1	12±2	9±1	13±2	9±1	13±2
Група 4	13±1	13±2	13±1	13±1	11±1	11±1
ЗИ – Дијаметар зоне инхибиције (mm)						
ЗД – Дијаметар зоне дифузије (mm)						

Табела 19. Осетљивост сојева *Enterococcus faecalis* на модификоване и немодифоване МТА

Тестиране супстанце су показале умерену антибактеријску активност против референтних и лабораторијских сојева *E. faecalis*. Група 3 и Група 4 су показали најефикасније антимикуробно дејство против референтног соја *E. faecalis* ATCC 29212. Иако су ове супстанце биле мање ефикасне против лабораторијских сојева који су били отпорнији на стандардне антибиотике, ипак су се показале боље од ванкомицина. Поред тога, чини се да је способност супстанци да дифундују у супстрат обрнуто пропорционална њиховој антибактеријској активности. Најзначајнији ефекат је примећен на дисковима где се зона инхибиције поклапала са зоном дифузије.

4.8 Резултати испитивања биокомпатибилности

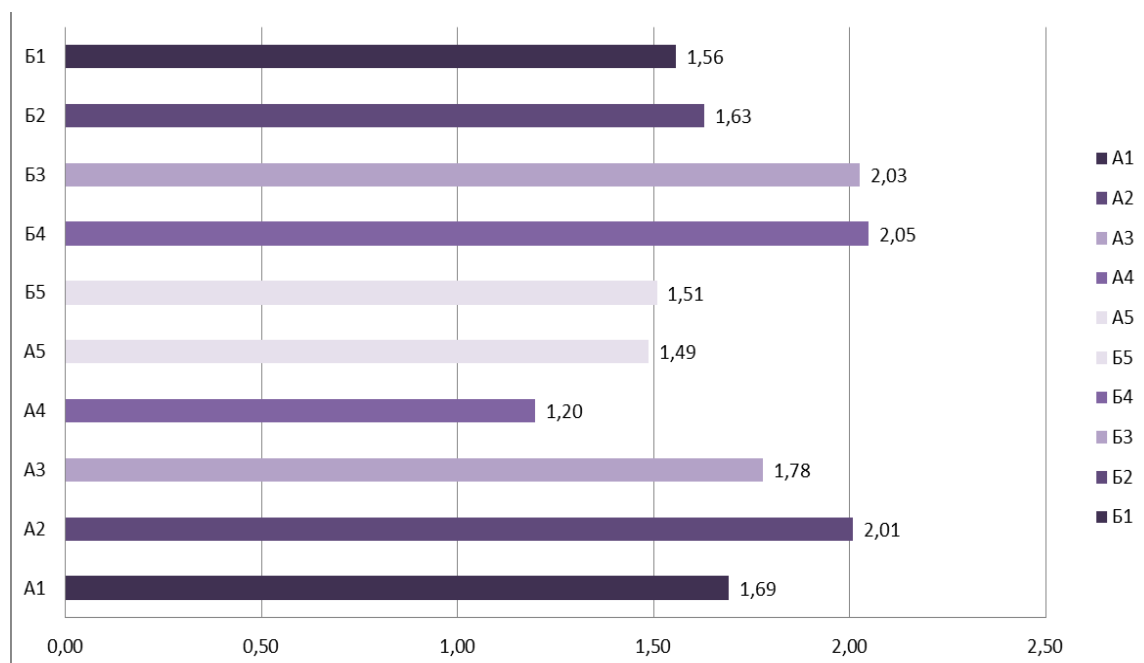
МТТ тест је коришћен за квантитативну анализу цитотоксичности новосинтетисаних цемента *in vitro* (Фигура 8). У експерименту смо користили људске (MRC-5) фибробластне ћелијске линије. Анализа резултата није открила значајну разлику у цитотоксичним ефектима између групе 1 (комерцијално доступног МТА) и групе 2 (МТА модификован зеолитом-клиноптилолитом) у поређењу са негативном контролном групом након 24 часовне евалуације (Фигура 8 (А)). Међутим, након 72 сата, група 2 је показала статистички значајно побољшање вијабилности ћелија у поређењу са негативном контролом (Фигура 8 (Б)). Насупрот томе, група 3 (модификација МТА зеолитом-клиноптилолитом модификованог ZrO₂) је показала највеће цитотоксичне ефекте на MRC-5 ћелије међу свим тестираним цементима. Иако нису примећене промене у вијабилности ћелија са групом 4 (модификација МТА зеолитом-клиноптилолитом модификованог Ag и Zn) након 24 сата (Фигура 8 (А)), значајни цитотоксични ефекти су примећени на култивисаним ћелијама након 72 сата (Фигура 8 (Б)).



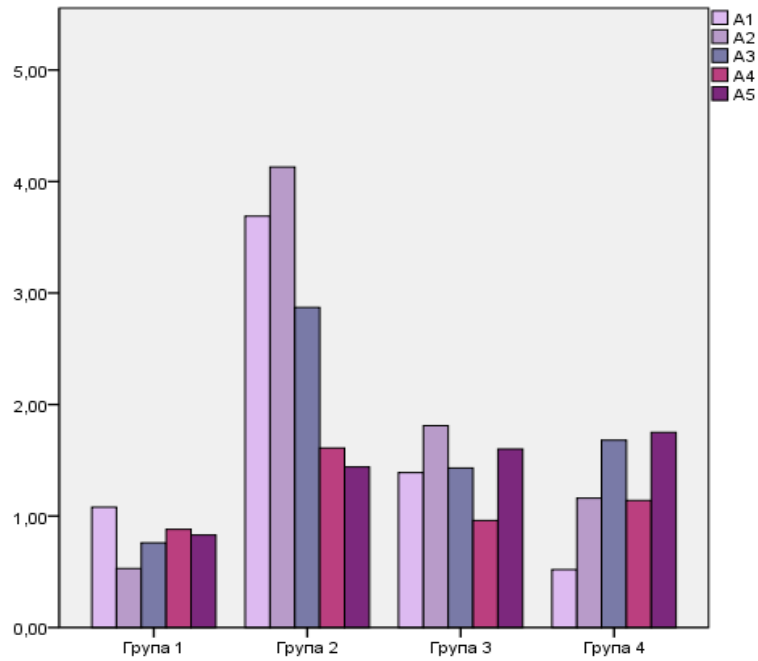
Фигура 8. Процена ћелијска виталност, вијабилности (ВИЈ) култивисаних људских фибробласта након инкубације са екстрактима цемента Група 1, Група 2, Група 3 и Група 4 током 24 сата (А) и 72 сата (Б). Подлога и дестилована вода коришћене су као негативне и позитивне контроле, респективно. Статистички значајне разлике су означене са (*) када је $p < 0,05$.

4.9 Резултати процене рубног заптивања

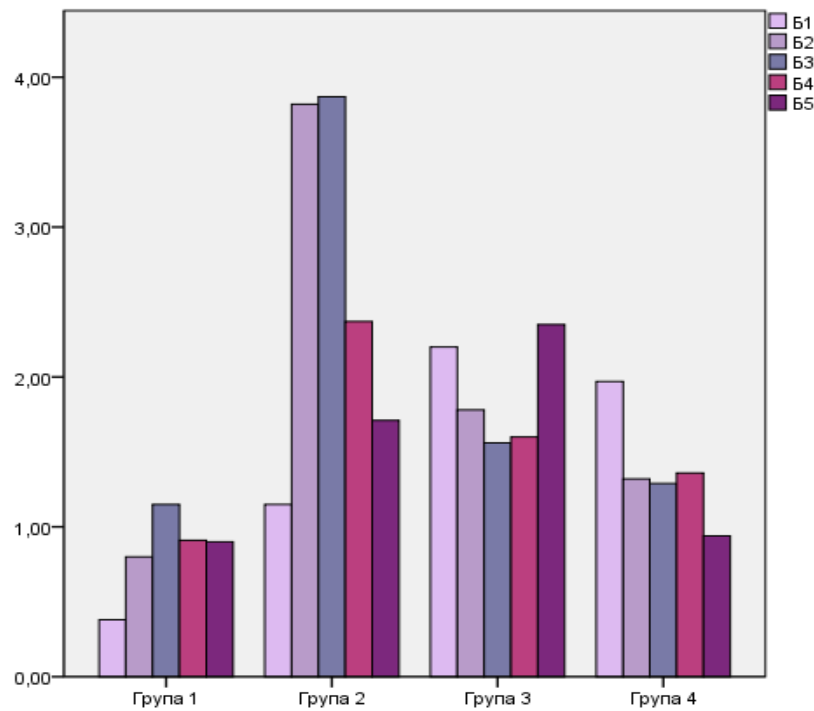
Маргинална адаптација испитиваних цемента је процењивана уз помоћ СЕМ-а, анализом маргиналне пукотине у 5 насупрмних тачака (А и Б са једне и друге стране уздужног пресека) ретроградно оптурираних једнокорених зуба (Фигура 9, 10 и 11). Вредности маргиналне пукотине значајно одступају од нормалне расподеле ($p < 0,05$). Резултати *Kruskal–Wallis* теста за варијабле које се тичу маргиналне пукотина оптурираних зуба (А1–А5, Б2–Б5) нису имале значајне разлике између група ($p > 0,05$), осим у Б1 тачки ($p = 0,020$), што указује да је само у овом случају постојала статистички значајна разлика између група. Отале разлике у А и Б варијаблама нису значајне, што значи да величина маргиналне пукотине нису зависне од групе цемента.



Фигура 9: Просечне вредности пукотина са обе стране на еквивалентним нивоима.



Фигура 10. Просечне вредности микропукотине у тачкама А према врстама цемента



Фигура 11. Просечне вредности микропукотине у тачкама Б према врстама цемента

Пост-хок *Mann-Whitney U* за варијаблу Б1 показују да модификоване формулације МТА цемента имају веће вредности у поређењу са немодификованим МТА, при чему су разлике статистички значајне за групу 3 и групу 4 ($p < 0,01$), али не и за групу 2 ($p = 0,068$). У поређењима између самих модификованих формулација нису забележене значајне разлике ($p > 0,05$), што указује да модификације имају сличан ефекат на ову димензију маргиналне пукотине. За утврђивање статистичке значајности између наспрамних страна маргиналне пукотине коришћен је *Wilcoxon* тест (Табела 23).

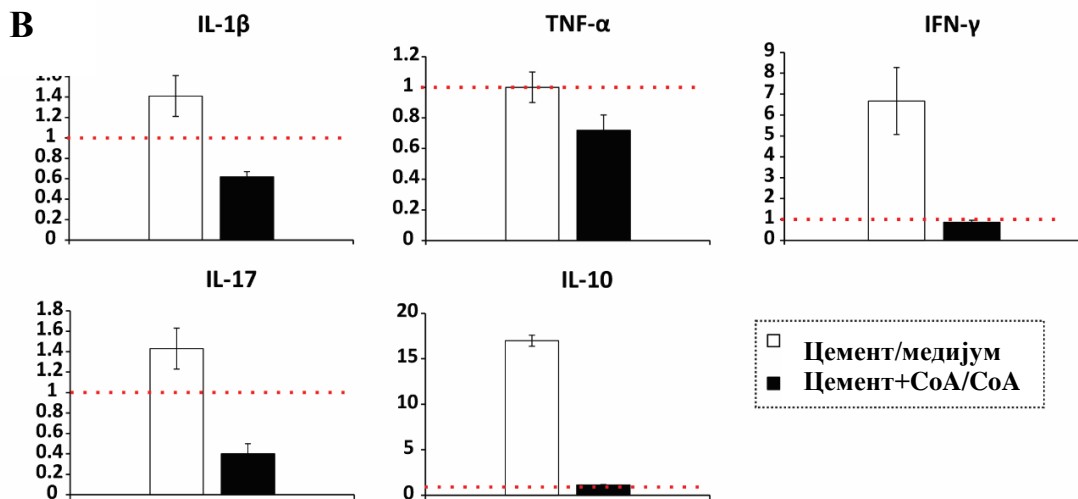
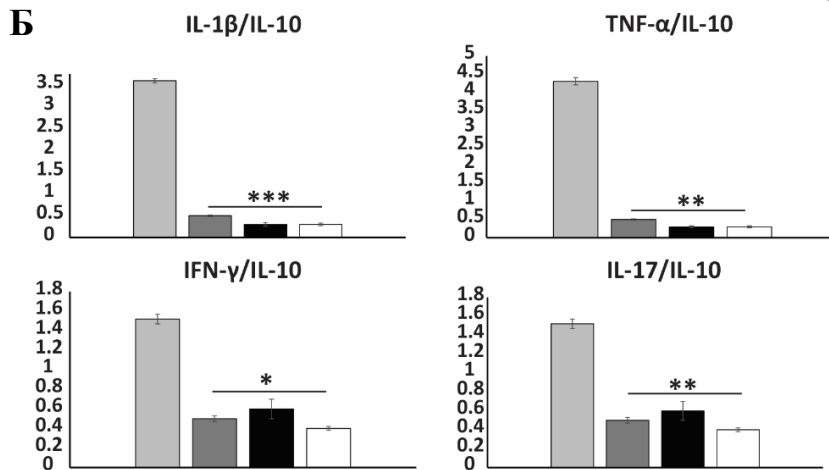
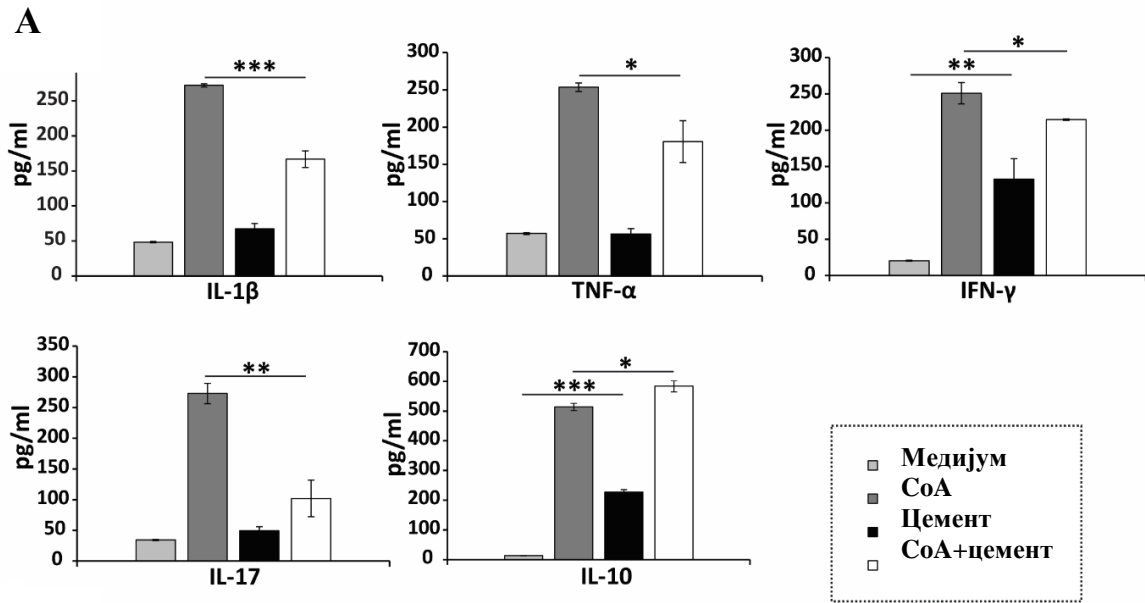
Парови	Strana (A) Median (IQR)	Strana (B) Median (IQR)	Z (Wilcoxon)	p (2-tailed)	Spearman r	p (sig.)
A1–B1	0.40 (0.00–1.95)	1.00 (0.00–2.00)	–0.371	0.711	0.200	0.215
A2–B2	0.95 (0.03–1.95)	1.00 (0.00–2.08)	–0.861	0.389	0.439	0.005*
A3–B3	1.00 (0.03–2.38)	1.50 (0.23–2.30)	–1.896	0.058	0.599	0.000*
A4–B4	0.50 (0.03–1.98)	1.00 (0.10–2.75)	–0.902	0.367	0.373	0.018*
A5–B5	1.00 (0.10–2.48)	1.00 (0.00–2.38)	–0.402	0.688	0.428	0.006*

Табела 20. У табели је приказан *Wilcoxon* тест и *Spearman* корелација за парове од А1–Б1 до А5–Б5.

У овој анализи, *Wilcoxon signed-rank* тест је коришћен за упоређивање вредности маргиналне пукотине између леве и десне стране зуба јер подаци нису пратили нормалну расподелу, а тест испитује да ли се медијане парова статистички разликују. *Spearman rang* корелација је примењена како би се проценила повезаност између вредности са леве и десне стране, независно од нормалности података, што омогућава идентификацију парова код којих веће вредности са једне стране прате веће вредности са друге. Ниједан од парова А1–Б1 до А5–Б5 нема статистички значајну разлику између посматраних страна према *Wilcoxon* тесту ($p > 0.05$), што значи да просечне величине пукотина нису статистички различите. Ипак, анализа *Spearman* корелације показује да су парови А2–Б2 ($r = 0.439$, $p = 0.005$), А3–Б3 ($r = 0.599$, $p < 0.001$), А4–Б4 ($r = 0.373$, $p = 0.018$) и А5–Б5 ($r = 0.428$, $p = 0.006$) значајно повезани, тј. вредности пукотина са једне стране имају тенденцију да буду праћене вредностима са друге стране, осим за пар А1–Б1 ($r = 0.200$, $p = 0.215$).

4.10 Резултати анализе имуномодулаторних ефеката - *In Vitro*

Утврђено је да је цемент из групе 2 (МТА цемент модификован зеолитом-клиноптилолитом) идеалан за процену имуномодулаторне ефекте због изузетно ниске цитотоксичности и позитивних антимикуробних својстава. Свеже изоловани спленцити су подељени у четири групе и култивисани су са медијумом, ConA, цементом или истовремено са ConA и цементом. Стимулација са ConA значајно је повећала концентрације IL-1 β ($p = 0,000$), TNF- α ($p = 0,000$), IFN- γ ($p = 0,000$), IL-17 ($p = 0,000$) и IL-10 ($p = 0,000$) у ћелијском супернатанту након 24 сата инкубације, у поређењу са ћелијама култивисаним само у медијуму (Фигура 2 (А)). Истовремена примена цемента и ConA значајно је смањила концентрације проинфламаторних цитокина IL-1 β ($p < 0,001$), TNF- α ($p < 0,05$), IFN- γ ($p < 0,05$) и IL-17 ($p < 0,05$), док је повећала концентрацију антиинфламаторног цитокина IL-10 ($p < 0,001$) у поређењу са ћелијама инкубираним само са ConA (Фигура 2 (А)). Цемент је произвео цитокине IL-1 β , TNF- α и IL-17 на нивоима упоредивим са онима пронађеним у нетретираним спленцитима, док су концентрације IFN- γ ($p < 0,01$) и IL-10 ($p < 0,001$) биле веће у групи са цементом. Поред тога, инкубација са цементом и ConA је резултирала смањеним односима IL-1 β /IL-10 ($p < 0,001$), TNF- α /IL-10 ($p < 0,001$), IFN- γ /IL-10 ($p < 0,05$) и IL-17/IL-10 ($p < 0,01$), у поређењу са ћелијама инкубираним само са ConA (Фигура 2 (Б)). Упоредили смо концентрације појединачних цитокина између група са цементом и медијумом, користећи граничну вредност од 1. Наша анализа је открила значајну везу, са вредношћу од 1 за оба цитокина IFN- γ и IL-10 ((Фигура 2 (Б)).



Фигура 12. Цемент из групе 2 смањује концентрацију IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , IL-17 и повећава ниво IL-10 *in vitro*. (А) концентрације IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , IL-17 и IL-10 мерене у супернатантима спленочита након 24-часовне инкубације у самом медијуму, СоА, цементу или истовремено са СоА и цементом. (Б) Приказан је однос IL-1 β /IL-10, TNF- α /IL-10 и IFN- γ /IL-10 мерен у супернатантима спленочита. (В) Приказан је однос појединачних цитокина између група цемент/медијум и цемент+СоА/СоА. Подаци су приказани као средња вредност \pm стандардна девијација. Статистичка значајност је одређена коришћењем Студентовог t-теста и *Mann-Whitney U* теста. Статистички значајне разлике су означене са (*) када је $p < 0,05$, (**) када је $p < 0,01$, (***) ($p < 0,001$).

5. ДИСКУСИЈА

Ендодонтски третман зуба узročника представља примарни терапијски приступ у лечењу хроничних периапикалних лезија (94,95). Међутим, у ситуацијама када конвенционална ендодонтска терапија не доведе до очекиваног клиничког и радиографског исхода, неопходно је применити хируршки приступ у лечењу (29,96,97).

Хируршко ендодонтско лечење обухвата ресекцију врха корена зуба, ретроградну препарацију и ретроградну оптурацију канала корена, чиме се обезбеђује ефикасније рубно заптивање и формирање поузданије баријере између инфицираног канала корена и периапикалног ткива (2,16,21,98). На овај начин се значајно смањује ризик од продора микроорганизама и њихових токсичних продуката у околна периапикална ткива, што доприноси повољнијем исходу терапије (67,99,100).

МТА цемент већ деценијама представљају златни стандард за ретроградну оптурацију (101,102). Његова клиничка ефикасност и повољан биолошки одговор преваходно су условљени хемијским саставом, који је иницијално заснован на портланд цементу, од кога потичу и изражена хидрофилност и способност везивања у присуству влаге (103–106). Међутим, како би се избегло присуство потенцијално токсичних елемената карактеристичних за оригинални портланд цемент, савремене формулације МТА цемента садрже синтетичке силикатне компоненте. Клиничка примена МТА цемента подразумева њихов директан контакт са сложеним биолошким окружењем, што може значајно утицати на њихове физичкохемијске, антимикробне карактеристике, биолошке особине и рубно заптивање (58,74,104,107).

Један од материјала који је привукао значајну пажњу у контексту модификације МТА цемената јесте зеолит-клиноптилолит, природни алуминосиликатни минерал са карактеристичном тетраедарском кристалном структуром, изразито порозан, негативно наелектрисан, поседује велики број канала и шупљина, поседује способност везивања катјона, хидроксилних група и молекула воде, поседује могућност јонске измене и добру биокомпатибилност (65,90,91,108–110). Упркос растућем броју студија (бројне студије су усмерене на развој нових формулација МТА како би се побољшала његова својства и отклонили сви потенцијални недостаци) у литератури и даље не постоји јединствен став о утицају зеолита на кључне физичкохемијске параметре МТА цемената, биокомпатибилност, антимикробна својства као и на квалитет рубног заптивања посебно у контексту ретроградне оптурације (48,72,111,112).

Одсуство научног и клиничког консензуса била је полазна тачка за сповођење овог истраживања. У овој студији смо вршили процену утицаја модификације праха комерцијално доступног калцијум силикатног и МТА цемента (додавањем 5% природног зеолита-клиноптилолита и модификованог зеолита клиноптилолита ZrO_2 или Ag и Zn у прах компоненту МТА) на имуномодулаторна својства, физичкохемијске особине, антибактеријске карактеристике, биокомпатибилност и рубно заптивање у апексној оптурацији једнокорених зуба.

Ово истраживање је по први пут показало, да МТА цемента модификовани зеолитом (укључујући и јонски измењене зеолитске модификације) који се примењују као материјали за ретроградну оптурацију у периапикалној хирургији испољавају значајна антибактеријска и имуномодулаторна својства, повољне физичкохемијске карактеристике, минималну цитотоксичност као и задовољавајуће рубно заптивање.

Компресиона чврстоћа је важна физичка особина хидрауличних цемента, који за везивање користе дестиловану воду, односно представљају директну меру везивања цемента и чврстоће материјала (113). То је важно својство које може утицати на остале клиничке перформансе материјала за ретроградну оптурацију, укључујући свеукупну стабилност материјала у функцији времена. Наиме, компресиона чврстоћа МТА цемента је најмања непосредно након иницијалног везивања, док своју пуну вредност достиже након 21 дан и дуже. Начин припреме цемента, однос материјала, присуство адитива, контакт са крви и плувачком, значајно може да утиче на смањење компресионе чврстоће. Иако већина комерцијално доступних цемента имају задовољавајућу компресиону чврстоћу након 21 дан, пожељно је извршити модификацију цемента како би повећали компресиону чврстоћу у првим сатима (евентуално данима) након везивања, јер су тад и највеће могућности за одламање материјала. Овај фактор игра важну улогу у исходу периапикалне хирургије јер су цемента индиректно изложени оклузалним силама и оклузалном оптерећењу. Компресиона чврстоћа стоматолошких материјала одређује се у складу са методом који препоручује ISO 6876 (73). Представља максимални притисак који може материјал да издржи пре ломљења. Помоћу машине за тестирање механичких особина материјала, компресиона чврстоћа се израчунава у паскалима ($Pa = N/m^2$), при чему се максимално компресионо оптерећење у њутнима ($kg \cdot m/s^2$) дели површином попречног пресека узорка у квадратним метрима. Пошто је ова вредност обично мала за већину механичких својстава, јединица се изражава у мегапаскалима (MPa).

У нашој студији, измерене вредности компресионе чврстоће не прате нормалну расподелу, те је због тога коришћен пост-хок *Mann-Whitney U* тест, а добијени резултати су представљени медијаном. Највећу вредност компресионе чврстоће 24 сата након везивања цемента показала је група 2 (27,60 MPa) у којој је извршена модификација зеолитом-клиноптилолитом, док је најнижу вредност компресионе чврстоће показала група 4 (13,56 MPa) где је примењен зеолит клиноптилолит модификован Ag и Zn. Компресиона чврстоћа за групу 1 је износила 18,30 MPa, док у групи 3 где је примењен зеолит клиноптилолит модификован ZrO_2 је износила 19,78 MPa. Постоји статистички значајна разлика у компресионој чврстоћи између свих поређених група ($p < 0,001$). Група 1 показује знатно нижу компресиону чврстоћу у поређењу са групом 2, док група 4 има најнижу вредност што јасно разликује ову групу од других. Овај резултат је разумљив када се узме у обзир да чист зеолит-клиноптилолит, fine гранулације у комбинацији са портланд цементом ствара $Ca(OH)_2$, који додатно реагује са SiO_2 и Al_2O_3 из клиноптилолита, формирајући C-S-H гел који је главни носилац компресионе чврстоће. Такође, фино самлевени зеолит клиноптилолит има филер ефекат, попуњава капиларне поре и смањује почетну порозност, што погодује повећању компресионе чврстоће непосредно након везивања. Напротив, зеолит модификован јонима Ag и Zn смањују компресиону чврстоћу, јер смањују заступљеност чистог зеолита клиноптилолита у масеном уделу цемента и утиче на реакцију хидратације C_3S/C_2S , ометајући формирање C-S-H гела.

Просечна вредност компресионе чврстоће (24 сата након везивања цемента) за групу 2 (цемент модификован зеолитом-клиноптилолитом) се поклапа са просечним вредностима комерцијално доступних силикатних цемента као што је Pro Root МТА (27 MPa), Портланд цемент (28,06 MPa) и МТА цементом (27,41 MPa) (72,73). Ови налази указују да модификовани материјал испуњава клиничке захтеве у погледу компресионе чврстоће, упоредив са комерцијално доступним материјалима који су на тржишту дуги низ година и имају велики број потврђених клиничких студија. Компресиона чврстоћа

за комерцијално доступан Bioaggregate (*Innovative BioCeramik, Inc.*, Канада) креће се у опсегу од 16,34 МПа до 29,07 МПа, док је за МТА Angelus у опсегу од 19,63 МПа до 41,51 МПа, што је компатибилно са нашим резултатима везано за групу 1 (портланд цемент), групу 2 (модификација са зеолитом-клиноптилолитом) и групу 3 (примењен зеолит клиноптилолит модификован ZrO_2) (70,114–116). У студији А. Flores-Ledesma где је модификација рађена са другим материјалом (биактивно стакло и валстонит, у масеном уделу од 10 до 30%), компресиона чврстоћа се је кретала у опсегу од 11,2 за МТА Angelus до 28,9 за експериментални портланд цемент са 20 % бизмут оксида, што у потпуности одговара просечним вредностима из наше студије (62). Резултати студије Samieі и сар. показали су да модификација МТА цемента зеолитом модификованим Ag и Zn значајно смањује компресиону чврстоћу у односу на немодификовани цемент, ипак вредности компресионе чврстоће ($19,57 \pm 5,76$ МПа) биле су значајно веће од оних добијених у нашој студији (108). Разлике у подацима везано за модификацију цемента зеолитом модификованим Ag и Zn могу бити последица начина припреме материјала, начина мешања, услова средине где се цемент везивао, величина честица и дизајна материјала за тестирање.

Резултати студије Ledesma и сар. су се разликовали од резултата у нашој студији у вези са компресионом чврстоћом; компресиона чврстоћа модификованог комерцијално доступног Портланд цемента била је у распону од $38,2 \pm 3,2$ до $55,3 \pm 2,6$ (57). Разлике у резултатима највероватније потичу од избора материјала за модификацију (у њиховој студији је биактивно стакло и валстонит) и процентуланог удела материјала за модификацију у прах компоненту портланд цемента (10 и 20 %).

Савојна чврстоћа представља механичко својство материјала које се описује као максимално напрезање које материјал може да издражи при савијању пре него што дође до лома. Пошто се МТА везује споро и додатно се налази у влажном клиничком окружењу, Вокер и сарадници су 2006. године, увели као меру тврдоће и савојну чврстоћу (73). У нашем раду смо користили савојну чврстоћу у 3 тачке. Као и код компресионе чврстоће, процес хидратације и правилне припреме материјала је од изузетног значаја за анализу савојне чврстоће.

Резултати наше студије показали су да средња вредност савојне чврстоће за групу 1 (немодификовани цемент) износи $18,43 \pm 0,38$ МПа. Код модификованих цемената, у групи 2 (модификација зеолитом–клиноптилолитом) и групи 3 (модификација применом зеолита клиноптилолита модификованог ZrO_2), утврђене су сличне вредности савојне чврстоће испитиваних узорака, које износе $18,44 \pm 0,45$ МПа и $17,48 \pm 0,41$ МПа. У групи 4, након модификације цемента зеолитом клиноптилолитом који је претходно модификован Ag и Zn, забележено је повећање савојне чврстоће, која износи $20,26 \pm 0,58$ МПа. Добијени резултати указују да модификација цемента природним зеолитом-клиноптилолитом и зеолитом-клиноптилолитом модификованим ZrO_2 није довела до значајних промена савојне чврстоће у односу на немодификовани цемент. Сличне вредности савојне чврстоће у групама 1, 2 и 3 могу се објаснити чињеницом да наведене модификације нису битно утицале на микроструктуру цемента на механизме преноса оптерећења при савијању. Природни зеолит-клиноптилолит, познат по својој способности јонске размене, може учествовати у процесима хидратације цемента и формирању C-S-H гела, међутим, у условима овог истраживања та интеракција није резултирала мерљивим повећањем савојне чврстоће. Слично томе, присуство ZrO_2 није показало значајан утицај на побољшање механичких својстава материјала, што указује да ова врста модификације не нарушава, али ни не унапређује

отпорност цемента на савијање. Супротно томе, у групи у којој је примењен зеолит-клиноптилолит модификован Ag и Zn забележено је повећање савојне чврстоће. Овај налаз може се повезати са потенцијалним позитивним утицајем Ag и Zn јона на микроструктуралну кохезивност и хомогенизацију цемента, као и на процес хидратације, што може допринети бољој расподели напона и повећаној отпорности материјала на савијање. Ипак, механизми овог утицаја захтевају додатна испитивања ради потпунијег разумевања интеракција између модификованог зеолита и портланд цемента.

Студија J. Camilleri која се бавила испитивањем савојне чврстоће модификованих МТА цемената, показала је генерално нешто ниже вредности савојне чврстоће ($\approx 5\text{--}16$ МПа) у односу на резултате добијене у нашем истраживању. Такође је уочено како повећање, тако и смањење компресионе чврстоће у односу на иницијални, немодификовани цемент, што је у складу са расподелом резултата добијених у нашој студији (117). Различитост у материјалима (додавали су ситно млевени гранит), различита процентуална заступљеност у масеном уделу, као и начин припреме су последица разлике у резултатима. Студија Nayati и сар. показала је нешто веће вредности савојне чврстоће ($17,58 \pm 1,23$ - $77,26 \pm 7,65$) модификованих трикалцијум силикатних цемента и белог портланд цемента, од резултата из наше студије (118). Ипак, вредности савојне чврстоће добијене у нашој студији налазе се у истом опсегу, али су ближе нижим границама наведених вредности. У односу на контролу групу ималу су повећање вредности савојне чврстоће у једној групи, као и наша студија. Могућа неслагања у резултатима могу бити последица различитог начина модификације, наиме користили су смешу бизмут-оксида у комбинацију са композитним смолама, који имају знатно боље особине везане за модул еластичности и оптерећење на истезање. Резултати студије Negar Moghaddam и сар. показују веће вредности савојне чврстоће комерцијално доступног Bioaggregate-a у поређењу са групом 4 из наше студије, модификација зеолитом клиноптилолитом који је претходно модификован Ag и Zn (119). Ови налази указују да потенцијална различитост у резултатима потиче у начину припреме узорка цемента за тестирање и самог спровођења теста.

Угао квашења представља тест којим се испитује способности адхезије капљице дестиловане воде за површину материјала (120). Овај тест је индикатор квашења чврстог материјала, у овом случају модификованог и немодификованог цемента, мерењем контактеног угла између цемента и апсорбоване капи дестиловане воде за површину цемента (121). МТА цемент када се помеша са водом, формира хидрофилни материјал (хидрофилни контактни угао $< 90^\circ$) што указује на одличну способност квашења и заптивања. На величину контактеног угла утиче храпавост површине (повезана са величином честица) и хемијски састав цемента. Већа хидрофилност површине повећава адхезију, абсорпцију протеина и везивање ћелија, што резултује бољом интеграцијом са периапикалним ткивом.

Резултати наше студије су показали да модификације цемента углавном доводе до повећање контактеног угла 1 и 2 у скоро свим модификацијама, осим у групи 2 (модификација зеолитом клиноптилолитом) где је контактни угао 1 имао незнатно повећање, док је контактни угао 2 имао евидентно смањење (односно повећање квашљивости материјала, што последично доводи до боље адхезије за дентин и боље продирање у дентинске тубуле). Ово се може објаснити тиме да модификације зеолита клиноптилолита ZrO_2 и јонима Ag и Zn повећавају храпавост и порозност цемента. На

тај начин слабе површински напон, силу адхезије и кохезије молекула воде за површину цемента који су модификовани применом модификованих зеолита.

Студија Kim и сар. је након модификације имала просечну вредност контактнoг угла између $46,61^\circ$ - $45,30^\circ$, што су значајно веће вредности од наших резултата у свим групама (122). Ово се може објаснити чињеницом да додаток зеолита фине гранулације у модификованом и немодификованом облику генерално смањује дијаметар пора на површини цемента, повећавајући адхезиону силу молекула воде за површину цемента. Студија Tarek Ashi и сар. добила је другачије вредности контактнoг угла, испитиваних силикатних цемента (121). Ово можемо објаснити тиме што су испитавали контактни угао након потапања цемента у раствор фосфатног пуфера од 168 сати, за разлику од наше студије где су узорци цемента били потопљени 30 дана. Такође, начин припреме и мешања узорка утиче на разлике у резултатима.

Време везивања МТА цемента је предмет истраживања многих студија, са циљем да смање и почетно и крајње време везивања (53,62,117,123). Истраживање је базирано на тражење одговорајућег адитива (акцелератора) који ће убрзати време везивања, а да друге особине од значаја не поремети (124–127). Подаци из литературе дају велики опсег времена везивања МТА цемента, креће се у распону од 5 минута за почетно везивање до 4 сата за крајње везивање. Велика различитост података потиче од различитог начина истраживања времена везивања, од присуство адитива и од осетљивости самих апарата за тестирање времена везивања (123).

Клинички значај времена везивања материјала за ретроградну оптурацију најпре се огледа у могућности контроле радног времена, да приликом припреме материјала и мешања не дође до пребрзог везивања (75,90). Такође, оптимално време везивања директно утиче на лакоћу и брзину примене (периапикална хирургија подразумева рад у једном ограниченом простору са смањеном видљивошћу и могућношћу за контаминацију) (105). Клиничка ефикасност и успех саме периапикалне хирургије је повезана са временом везивања, јер након везивања материјала долази до испољавања свих физичкохемијских карактеристика од значаја за спречавање микроцирења, лома, одлепљивања, повећане растволјивости и појаву рецидива (61,106,123,128).

Резултати наше студије су показали да просечно време везивања модификованих формулација цемента у односу на немодификоване цементе (контролна група) значајно мање и статистички значајно. Наиме, група 1 (немодификовани цемент) је имала значајно дуже време везивања у односу на све модификоване формулације цемента, док су и све модификоване групе међусобно значајно различите. Најкраће време везивања забележено је код цемента који садржи зеолит клиноптилолит модификован Ag и Zn. Ово својство могло би се објаснити структуром зеолита. Зеолити су кристалне структуре алуминијумског силиката које имају празнине унутар оквира, изразито малог пречника, које могу да приме катјоне, воду или органске молекуле (124). Највероватније долази до повећање концентрације јона, молекула воде и калцијум силкатног гела у поре зеолита, што доводи до брже хидратације цемента и скраћује време везивања (90). Такође, зеолит се изузетно добро меша и хомогенизује са прах компонентом немодификованог цемента, ствара компактну смешу, мења распоред честица и повећава количину молекула воде између њих кроз своје поре.

У студији Çağdaş и сар. извршена је модификација МТА цемента зеолитом који је модификован Ag (масени удео од 0,2 % и 2 %) и скратили су крајње време везивања

са 56 мин. на 19,5 мин, док је у нашој студији време везивања скраћено са 157,2 мин на 55,3 мин. (124). Иако је и једно и друго време везивања значајно смањено, разлике у резултатима највероватније потичу од количине модификованог цемента и начина модификације, у нашој студији масени удео модификованог природног зеолита клиниптилолита износи 5 %. Студија Ledesma и сар. је представила знатно другачије времена везивања модификованих цемента, уколико се упореди са контролном групом (немодификованим цементам). Наиме, резултати студије су показали да је време везивања скраћено са 18 мин. на 9,5 мин (62). Различитост података највероватније потиче од различитих метода испитивања времена везивања (у њиховој студији коришћене су Глиморове игле), начина чувања узорка цемента за тестирање, различитог начина модификације и мешања цемента. Студија Mostafa и сар. испитивала је крајње времена везивања комерцијалног доступног портланд цемента (185.41 мин) и МТА цемента (~140 мин.) и њихових модификованих верзија (~100 мин. – 34,55 мин.) (105). Иако је дистрибуција резултата мало другачија од наших (минималне и максималне вредности се разликују), резултати наше студије се налазе у сличном опсегу просечних вредности, евентуална разлика и мала одступања потичу од начина модификације и начина тестирања узорка. Резултати студије Benjamin S. Berg и сар. у којем су модификовали комерцијално доступан портланд цемент акцелераторима метилцелулозом и калцијумхлоридом имали су и смањење и повећање времена везивања, међутим резултати везани за смањење времена везивања су у сличном опсегу са нашим резултатима (75). Просечно време везивања смањено је са 180 мин. на 83 мин. и 60 мин., док су са неким модификацијама имали продужено време везивања на 202 мин. и 215 мин. Разлике највероватније потичу од састава материјала који је коришћен за модификацију портланд цемента, начина мешања цемента и количине заступљеног акцелератора у модификацији портланд цемента.

Растворљивост материјала за ретроградну оптурацију у основи зависи од растварача (крв, пљувачка и међућелијска течност), температуре (просечна телесна температура 36°-37° C) и притиска (73). Степен растворљивости супстанце у одређеном растварачу мери се као концентрација засићења, након чега додавање више растворене супстанце не повећава њену концентрацију у раствору. Степен растворљивости МТА цемента процењен је према модификованој спецификацији Америчког стоматолошког удружења (енгл. *American Dental Association*, ADA). Растворљивост МТА је спорна тачка међу истраживачима. Утврђено је да је растворљивост МТА цемента непостојећа у већини истраживања (48). Док већина студија показује ниску или никакву растворљивост, делимична растворљивост МТА цемента са смањењем брзине током времена је забележена у дугорочној студији током периода од 78 дана (129). Однос воде и праха утиче на количину растворљивости, при чему већи однос воде и праха повећавају растворљивост и порозност МТА и других трикалцијум силикатних цемента (57,62,129). У складу са постављеним стандардима, губитак масе испод 3% услед растворљивости се сматра задовољавајућим резултатом (62). Повећана растворљивост утиче на коначни успех периапикалне хирургије, утиче на дезинтеграцију материјала, појави микропукотина, губутку баријерне функције и поновној колонизацији периапикалног ткива (49,57,72).

Резултати наше студије су показали да ни у једној групи испитиваних цемента нисмо имали смањење масе, већ напротив незнатно повећање испитиваних узорка. Услед присуства флуида највероватније долази до абсорпције воде и преципитације јона на површину узорка цемента. У групи 2, имамо повећање масе од 0,97%, у групи 3 повећање износи 0,33 %, док у групи 4 повећање масе износили 1,73 %. У контролној

групи 1, повећање масе цемента износило је 0,36 %. Једино је група 3 која је модификована зеолитом-клиноптилолитом модификован ZrO_2 имала нешто мање повећање масе у односу на контролну групу. То се може објаснити тиме што модификација зеолита ZrO_2 , заправо модификација честицама керимике који смањују укупну масу зеолита и смањују поре за таложње молекула воде. Клинички аспект повећања масе може бити од значаја, јер у функцији времена материјал за ретроградну оптурацију у контакту са ткивним флуидима може да доведе до благе експанзије што ће сигурно утицати на смањење пукотине између дентина канала корена и материјала за ретроградну оптурацију (49,62,124).

Студије *in vivo* показала је другачије резултате у односу на нашу студију, наиме они су показали показали губитак масе и велику растворљивост у групама цемента који су модификовани сребро зеолитом (124). Дрasticна разлика у резултатима потиче највероватније у методологији самог рада, наиме они су крајњу масу узорака цемента мерили након 48 сати сушења на температури од $37^\circ C$. У две одвојене студије А. Flores-Ledesma и *in vivo* показали су изузетно малу промену (статистички занемарљиву) у тежини модификованих МТА цемента у односу на контролну групу (0,03 %) (57,62). Резултати ових студија показују сличност са нашом студијом, међутим мала разлика у расподели резултата потиче највероватније од различитог односа праха и течности приликом припреме цемента и различитим материјалима за модификацију. Студија Augusto Bodanezi и *in vivo* је показала је да је растворљивост комерцијално доступних МТА и портланд цемента, динамичан процес и да у зависности од тога да ли се прати непосредно или одложено долази до губитка или повећање масе теситираних узорака цемента (130). Наиме, они су имали непосредно повећање масе од 0,98 % (за портланд цемент) и 0,32% (за МТА цемент), док су у дужем временском интервалу имали растворљивост између 0,08% и 0,24%. Разлике у повећању и смањењу масе су највероватније последица задржавања воде и разлике у методолошком присуству у испитивању растворљивости. Различитост литературних података је навела да Shahriar Shahi и *in vivo* испитају растворљивост МТА цемента код различитих начина припреме цемента и у све три групе (ручно, путем амалгаматора и ултразвучно) су добили различите резултате (131). Резултати студије Supriya Makam и *in vivo* су показали повећање масе комерцијално доступног МТА (0.229 % и 0.598 %). у периоду од 28 дана приликом испитивања растворљивости, као и у модификацији са хитозаном (повећање тежине од 0,134%) што је у складу са резултатима из наше студије, да и у дугорочном посматрању (≥ 28 дана) долази до повећања масе потопљених узорака цемента (132)

pH вредност је мера растворених јона водоника. По дефиницији, чиста вода има pH близу 7,0. Раствори са pH нижим од 7,0 су кисели, а они са вишом вредношћу називају се базни или алкални. pH вредност раствора се мери електронски уз помоћ pH метра или уз помоћ хемијских индикатора. МТА цемент преко свог pH остварује антимицробани ефекат и изазива стерилну некрозу која погодује ресорпцији оштећених делова периапикалног ткива, и ствара погодно окружење за његову репарацију.

Иницијална pH вредност у групи 1 износила је 8,88, после 24 је достигла свој максимум који је износио 10,52, док је након 30 дана износила је 9,17. Иницијална pH вредност у групи 2 износила је 10,34, после 24 је достигла свој максимум који је износио 13,11, док је након 30 дана износила је 9,28. Иницијална pH вредност у групи 3 износила је 11,52, после 24 је достигла свој максимум који је износио 11,59, док је након 30 дана износила је 8,95. Иницијална pH вредност у групи 4 износила је 9,95, после 24 је достигла свој максимум који је износио 10,81, док је након 30 дана износила је 8,51. Упоредивши међугрупне резултате, модификоване групе цемента у

иницијалном мерењу и након 24 сата су постизали веће вредности рН у односу на немодификоване групе. Након стабилизације рН, после 30 дана, само група 2 које је модификована зеолитом клиноптилолитом имала је веће вредности у односу на контролу групу и на остале модификоване групе цемента. Група 3 након краткотрајног повећања рН вредности, након 21 дан бележи пад рН вредности у односу на контролну групу 1, да би након 30 дана имала нижи рН од контролне групе. Група 4 након краткотрајног повећања рН вредности, већ након 72 сати бележи пад рН вредности у односу на контролу групу 1, да би након 30 дана имала знатно нижи рН од контролне групе. Највероватнији разлог више и стабилније рН вредности у групи која је модификована зеолитом-клиноптилолитом, је тај што није нарушен капацитет јонске измене, односно способности да зеолит пуним капацитетом задржава и постепено ослобађа Ca^{2+} и OH^- јоне. У групама где је зеолит-клиноптилолит модификован ZrO_2 или јонима Ag и Zn , модификације смањују капацитет јонске измене, мењају структуру самог зеолита, а што за последицу има смањено ослобађање Ca^{2+} и OH^- јона.

Резултати студије Odabas и сар. у којој је модификован МТА цемент сребро зеолитом, у периоду од 72 сати, показали су повећење и стабиловање рН вредности са око 8 (после 10 мин) на око 11, што показује доста сличности са нашим резултатима (88). Студија Ledesma и сар. је показала да поједини адитиви (биоактивно стакло и валстонит) у МТА цементу смањују рН вредност, али и да поред тога након стабилизације износи између 8,6-9, што је приближно резултатима из наше студије (107). МТА цемента поседују рН вредности од 10,2 непосредно након мешања, док након 3 сата расте на 12,5 што са аспекта модификације највише одговара групи цемента која је модификована зеолитом клиноптилолитом (128). Ова модификација показује да зеолит-клиноптилолит не нарушава рН вредност, већ побољшава особине цемента. Ова особина је од клиничког значаја, повећава могућност за примену модификованих цемента у клиничким истраживањима и омогућава потпуну упоредивост са комерцијално доступним цементима. Резултати студије Zavare и сар. су показали да се рН вредност узорака повећавала од првог до 14. дана, што је слично за већину наших група цемента, осим за групу 4 која је модификована применом зеолита-клиноптилолита модификованог Ag и Zn , где имамо пад након 72 сати (125).

Рендгенконтрасност представља особину материјала да буде радионепропусно за рендгенски извор зрачења, како би се адекватно визуализовало на радиограму. Изузетно пожељна особина и од клиничког значаја за материјале за ретрооптуруацију, јер на тај начин може да се прати да ли су на право место апликовани, постојаност и евентуална дезинтеграција. Иницијална средства која су се користила за рендгенконтрасност су показала токсични потенцијал, па су у савременим формулацијама замењена другим материјалима.

Резултати наше студије су показали да је најмању рендгенконтрасност и значајно смањење било у групи 2 (3,4) у односу на групу 1 (4,5). Повећана рендгенконтрасност била је у групи 3 (4,9) и групи 4 (5,1). Модификација зеолитом клиноптилолитом је имала најмању рендгенконтрасност зато што у хемијском смислу састављен од елемената који имају ниску апсорпцију рендгенских зрака. Модификација ZrO_2 или Ag и Zn повећава процентуалну заступљеност рендгенконтрасних елемената који имају већу апсорпцију рендгенских зрака (већи атомски број)

Резултати студије Vitti и сар. су показали да је просечна рендгенконтрасност експерименталних модификованих цемента између 4,6 – 5,2 што одговара делу наших

результата са највећим редгенконтрастом (49). Пошто је најчешће подручје где се овај материјал поставља апикално подручје, главно зубно ткиво које се тамо налази је дентин, и с обзиром на то да је апикална зона пречника око 1–1,5 mm, може се користити цемент са редгенконтрастом од најмање 2,5 mm (дебљина оговару еталону алуминијума-Al) (62). Међутим ISO стандард 6876 за пуњење корена наводи да ови материјали морају имати најмање 3 mm (Al). Ledesma и сар. су показали значајно смањење редгенконтрасности (додавањем биактивног стакла и валстонита) у односу на немодификован комерцијално доступан МТА Angelus (у просеку износио 5.95) (62). Студије Lin и сар. (0,88-2,76) и Sen и сар. (2,29-4,32) добили су генерално ниже вредности редгенконтрасности у односу на резултате из наше студије, што је највероватније последица различитих мерних апарата и самог поступака мерења ренгден уређејам (133,134).

Потпуно елиминисање бактерија из периапикалног ткива од кључног је значаја за успех периапикалне хирургије и појаву рецидива. *E. faecalis* је једна од бактерија које се најчешће изолују у хроничним периапикалним лезијама, што је чини погодном за испитивање антимикуробне активности модификованих МТА цемента (102).

Резултати наше студије су показали да модификација МТА цемента зеолитом-клиноптилолитом и зеолитом-клиниптилолитом модификованог ZrO_2 или Ag и Zn има потенцијал да унапреди антимикуробни ефекат против *E. faecalis*, укључујући и сојеве резистентне на стандардне антибиотике. Више студија је пријавило да МТА цемент и неке од модификација показују антибактеријску активност против *E. faecalis* (58,116,135). На пример, у студији Volhari и сар. тест дифузије на агару није показао зону инхибиције за МТА и његове модификације након 24 часа инкубације (67). Насупрот томе, наши резултати су показали присуство зоне инхибиције код свих МТА модификација, и то за сва три соја *E. faecalis*, након коначног везивања цемента (сушење диска на собној температури, више од 3 сата).

Иако су антимикуробна својства зеолита добро позната, претходне студије су показале да се његов ефекат може појачати модификацијом различитим јонима (79,82,110). Наша студија је показала да су МТА модификације које садрже зеолит-клиноптилолит или зеолит-клиноптилолит модификован ZrO_2 или Ag и Zn испољиле јачи антимикуробни ефекат у поређењу са немодификованим МТА цементом. Модификација МТА цемента зеолитом-клиниптилолитом модификованог јонима Ag и Zn показала је најбољи антимикуробни ефекат, што је у складу са налазима других студија (65,79,88,90,91). Утврђено је да додавање Ag и зеолита може побољшати антимикуробна својства МТА цемента. У нашој студији, модификовани МТА цемента показали су већу зону инхибиције против референтног соја *E. faecalis* ATCC 29212 у поређењу са комерцијално доступним МТА. У поређењу са другим студијама, додавање адитива МТА цементу може различито утицати на антибактеријску активност против *E. faecalis* (58,136). Зеолит и његове модификације на различите начине могу испољити антимикуробни ефекат у контакту са бактеријама из усне дупље, тако што успоравају њихов развој, инактивирају метаболичке ензиме, спречавају репликацију РНК (рибонуклеинске киселине) и блокирају хелијско дусање (137).

МТА цемент је најчешће коришћени материјал за ретроградну оптурацију канала корена, познат по биоактивности и биокомпатибилности. У нашем истраживању одлучили смо се, да за *in vitro* испитивање биокомпатибилности користимо културу хуманих фибробласта. Материјали за ретроградно пуњење канала корена имају

директан и трајни контакт са периапикалним ткивом, и од кључног значаја је да показују ниску цитотоксичност. МТА цементи могу ослобађати растворљиве компоненте у ткивну течност, дифундовати и накнадно утицати на околне ћелије и ткива. Да би се утврдила биокompatibilност материјала, уобичајено је да се најпре процени њихов цитотоксични потенцијал пре спровођења било каквих клиничких студија.

У нашој студији испитивали смо цитотоксични ефекат модификованих МТА цемента (зеолитом клиноптилолитом, зеолитом клиноптилолитом модификованог ZrO_2 и зеолитом клиноптилолитом модификованог Ag и Zn) на ћелијску линију хуманих фибробласта. Након 24 сата евалуације није уочена статистички значајна разлика у цитотоксичности између комерцијалног МТА цемента, МТА модификованог зеолитом клиноптилолитом и МТА модификованог зеолитом клиноптилолитом са ZrO_2 у поређењу са негативном контролном групом. Међутим, након 72 сата, МТА модификован зеолитом клиноптилолитом је показао статистички значајно побољшање ћелијске вијабилности у односу на негативну контролу. Од свих испитиваних цемента, МТА модификован зеолитом клиноптилолитом са ZrO_2 је показао највећи цитотоксични ефекат на MRC-5 ћелије. Друге студије су показале да МТА цементи испољавају повећану цитотоксичност са продуженим временом експозиције. Конкретно, цитотоксични ефекти су били израженији након 72 сата у односу на 24 сата, што потврђује да је цитотоксичност зависна од дужине излагања. Поред тога, студија коју су спровели Koulauzidua и сар. процењивала је цитотоксичност два МТА цемента на хуманим плућним фибробластима и ћелијама пулпе пацова, при чему је утврђено да су експериментални материјали изазвали значајније цитотоксичне ефекте након 72 часа, него након 24 часа од тренутка излагања (138,139). Наши резултати су у складу са студијом Samiei и сар. која је показала да зеолит у комбинацији са јонима Ag и Zn испољава адекватну биокompatibilност (108). Sipert и сар. су показале да растворљиве компоненте портланд цемента не утичу негативно на вијабилност ћелија нити на стопу пролиферације хуманих фибробласта периодонталног лигамента (140). Друге студије су такође показале да ниске концентрације наночестица ZnO, када се комбинују са МТА цементом у одређеним концентрацијама, показују значајну биокompatibilност (141). Међутим, важно је напоменути да прекомерне концентрације Zn могу довести до стварања реактивних врста кисеоника и изазвати дисфункцију ћелијске мембране.

Способност заптивања материјала за ретроградну оптурацију је од кључног значаја, јер преостали интраканални иританти, пре свега микроорганизми, могу изазвати рефракторну патологију и потенцијално захтевати додатне хируршке интервенције. Способност заптивања се одређује величином маргиналне микропукотине, односно што је микропукотина мања између материјала за ретроградну оптурацију и дентина канала корена, то је већа способност заптивања самог материјала. Препоручује се дебљина материјала од 4 mm како би смањила могућност за појаву микропурења (68).

Рубно заптивање мерили смо у 10 тачака, односно у пет наспрамних тачака, на споју дентина са модификованим и немодификованим цементима који су се користили за ретроградну оптурацију. Резултати наше студије су показали да у девет од десет мерних тачака нема статистичке значајне разлике између група цемента у величини маргиналне пукотине. Просечна вредност маргиналне пукотине за групу 1 је износила $0,83 \pm 1,04 \mu m$, за групу 2 је износила $2,66 \pm 4,80 \mu m$, за групу 3 је износила $1,67 \pm 1,66 \mu m$, док је за групу 4 је износила $1,32 \pm 1,49 \mu m$. Разлике у вредностима између група потичу

од варијабле Б1. Наиме модификоване формулације МТА цемента имају веће вредности у поређењу са немодификованим МТА, при чему су разлике статистички значајне за групу 3 и групу 4 али не и за групу 2. Модификације МТА цемента зеолитом-клиноптилолитом и зеолитом-клиноптилолитом модификованог ZrO_2 и јонима Ag и Zn, нису у већој мери утицале на процес адхезије МТА цемента за дентин, димензиону стабилност, па самим тим и на вредност маргиналне пукотине. Нису забележене значајне разлике у рубном заптивање модификованих МТА цемента у односу на немодификовани МТА, што указује да модификације имају сличан ефекат на димензију маргиналне пукотине.

Резултати студије Ledesma и сар. су показали другачије вредности микропукотине у односу на резултате из наше студије (57). Просечне вредности микропукотине су нешто веће од наших (6,1-14 μm), а највероватнији разлог је што су узорке потапали у фосфоатни пуфер пре микроскопске анализе, за разлику од нашег истраживања где смо микропукотину анализирали непосредно након везивања цемента. Резултати студије Braga и сар. у којој су испитиване микропукотине комерцијално доступних МТА цемената и експерименталних цемената, показали су велику сличност са резултатима добијеним у нашој студији ($0,812 \pm 0,550 \mu m$ - $3,778 \pm 2,904 \mu m$) (142). Сличности је уочена и са комерцијално доступним цеменатима, што указује на то да наше модификације могу имати потенцијални клинички значај. Просечне вредности микропукотине материјала за ретроградну и ортоградну оптурацију у студији Rosa и сар. за МТА износи $0,33 \pm 0,20 \mu m$, за портланд цемент износи $0,58 \pm 0,13 \mu m$, док за Super EVA износи $1,58 \pm 0,67 \mu m$ (143). Вредност микропукотине за МТА и портланд цемент су нешто мање од резултата из наше студије. Минимално одступање од наших резултата највероватније потиче од чињенице да је микропукотина измерена на близу споја са гутаперком, где се током постављања материјала за ретроградну оптурацију јавља највећи притисак и смањује ризик од микропукотине.

Исход инфекције у периапикалном ткиву, било зарастање или погоршање, зависи од интеракција између ћелија урођеног и стеченог имуног система. Показано је да LPS из ћелијског зида бактерија (енгл. *Lipopolysaccharides*), стимулише ћелије имуног система да ослобађају инфламаторне молекуле ($IL-1\alpha$, $IL-1\beta$, $TNF-\alpha$, $IL-6$, PGE_2 , $IL-10$ и MMPs (енгл. *Matrix metalloproteinases*)) који учествују у патогенези хроничних периапикалних лезија (144-145). Инфламаторни ћелијски инфилтрат који се налази у грануломима и радикуларним цистама углавном се састоји од мононуклеарних ћелија и лимфоцита. Синтетисани проинфламаторни цитокини помажу у регрутовању додатних леукоцита и покрећу сложен ћелијски имунски одговор у инфламираном периапикалном ткиву (146).

Наши резултати су показали да истовремена примена модификованог МТА цемента (модификован зеолитом-клиноптилолитом) и ConA значајно смањују продукцију проинфламаторних цитокина ($TNF-\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-17$ и $IFN-\gamma$) од стране спленоцита у поређењу са ћелијама инкубираним само са ConA. Насупрот томе, ова комбинација је повећала концентрацију антиинфламаторног цитокина $IL-10$. Додатно, инкубација са модификованим МТА цементом довела је до смањених односа проинфламаторних и антиинфламаторних цитокина ($IL-1\beta/IL-10$, $TNF-\alpha/IL-10$ и $IFN-\gamma/IL-10$), у поређењу са ћелијама третираним ConA. ConA је добро познат митоген Т-ћелија који може да активира имунски систем, регрутује лимфоците и изазове продукцију цитокина. Ово указује да МТА цемент модификован зеолитом-клиноптилолитом у инфламаторном окружењу смањује проинфламаторне цитокине, а

истовремено повећава антиинфламаторне цитокине, чиме се побољшава имунски одговор и смањује инфламација.

Поређењем односа концентрација цитокина између модификованог МТА цемента зеолитом-клиноптилолитом и медијума, утврђена је значајна повезаност са IL-10, уз граничну вредност 1. Ово указује да модификовани цемент, чак и у условима неинфламираног ткива, ослобађа одређену концентрацију антиинфламаторног цитокина IL-10, чиме се успоставља имунорегулаторно окружење у одсуству инфламације. У неактивним грануломима уочени су значајно нижи нивои цитокина TNF- α , IFN- γ и IL-17 (147). Брже зарастање периапикалног ткива код зуба са инфламаторним променама у периапикалном ткиву уочено је код пацијената који примају биолошку терапију за аутоимуне болести, што додатно истиче улогу TNF- α и IL-1 у имунопатогенези периапикалних лезија (148). Алтернативни приступ подразумева примену интраканалних антимикуробних лекова формулисаних са наноматеријалима ради модулације локалних цитокинских и имунских одговора (149). Elsalhy M. и сар. су утврдили да повишени нивои TNF- α и IL-1 β корелирају са иреверзибилним пулпитисом (150). Њихова улога у развоју обољења потпорног апарата зуба је такође проучавана. У инфламаторном микроокружењу, TNF- α , IL-1 β и други инфламаторни цитокини подстичу диференцијацију моноцита у остеокласте. Овај процес доприноси инфламаторној остеолизи, која представља примарни узрок периапикалног губитка кости (151).

IFN- γ прототипски Th1 цитокин инхибира остеокластогенезу *in vitro*. Међутим, *in vivo* његови проинфламаторни ефекти преовладавају над овим инхибиторним дејством, што доводи до повећане ресорпције кости (152–153). Истраживања показују да се двострука улога IFN- γ у остеокластогенези може приписати његовим различитим ефектима на остеокласте у различитим фазама њихове диференцијације (154). Oseko и сар. су доказали да су нокаут мишеви за IL-17 отпорни на развој експерименталних инфламаторних стања у периапикалном ткиву, што истиче значај Th17 ћелија и цитокина које оне продукују у инфламаторном процесу. IL-17, који луче Th17 ћелије, може реактивирати инфламаторни процес стимулишући продукцију IL-8, који је одговоран за регрутовање неутрофила и подстицање ресорпције кости (155–156). Сходно томе, виши нивои инфилтрације IL-17 и повећана експресија IL-17 могу довести до поновне егзарцезације хроничног периапикалног процеса (157). Поред тога, IL-17 индукује продукцију RANK-L (Receptor Activator of Nuclear Factor kappa-B Ligand) путем активације остеокласта, који учествују у ресорпцији кости повезаној са инфламаторним процесима у периапикалном ткиву (158). Иако већина студија наглашава проинфламаторну улогу IL-17 у развоју хроничних инфламаторних процеса, поједина истраживања указују да он може имати и заштитну улогу у процесу ресорпције кости (159).

Имуномодулаторна активност је испитивана код различитих врста цемената. На пример, Saraceni и сарадници су показали да гласјономер цементи модификовани хитозаном и хидроксиапатитом појачавају антимикуробну активност против *Streptococcus mutans* и повећавају продукцију IL-6 (160). Више студија је показало да ендодонтски силери поседују имуномодулаторне ефекте на инфламацију и остеогенезу (161). Ови силери такође могу смањити инфламаторне цитокине, као што су IL-6 и TNF- α , који су индуковани од стране LPS, што указује на њихов позитиван имуномодулаторни ефекат (162).

6. ЗАКЉУЧЦИ

Резултати испитивања компресионе чврстоће указују да модификација цемента зеолитом клиноптилолитом и зеолитом који је претходно модификован ZrO_2 / Ag и Zn може довести до промена ове механичке особине, при чему су код појединих модификација забележене више (модификација зеолитом клиноптилолитом и зеолитом клиноптилолитом модификован ZrO_2), док су код других ниже вредности у односу на немодификовани цемент. Ови налази указују да тип примењене модификације има значајан утицај на отпорност материјала на компресиона оптерећења.

Резултати испитивања савојне чврстоће указују да модификација цемента зеолитом клиноптилолитом и зеолитом који је претходно модификован ZrO_2 / Ag и Zn може довести до промена ове механичке особине, при чему су код појединих модификација забележене више (модификација зеолитом клиноптилолитом који је претходно модификован Ag и Zn), док су код других ниже вредности у односу на немодификовани цемент. Ови налази указују да тип примењене модификације има значајан утицај на отпорност материјала на савојна оптерећења.

Резултати испитивања угла квашења показали су да модификација цемента зеолитом клиноптилолитом и зеолитом који је претходно модификован ZrO_2 / Ag и Zn у већини случајева доводи до повећања угла квашења, док је смањење ове вредности забележено само у модификацији са зеолитом клиноптилолитом. Ови налази указују да примењене модификације могу значајно утицати на површинска својства материјала, што може имати значај у контексту његове клиничке примене.

Резултати испитивања времена везивања показали су да модификација цемента зеолитом клиноптилолитом и зеолитом који је претходно модификован ZrO_2 / Ag и Zn смањују време везивања. Ови налази указују да примењене модификације могу значајно унапредити клинички рад.

Резултати испитивања растворљивости показали су да модификација цемента зеолитом клиноптилолитом и зеолитом који је претходно модификован ZrO_2 / Ag и Zn не утичу на растворљивост. Ови налази указују да примењене модификације могу значајно повећати успешност периапикалне хирургије.

Резултати испитивања рН вредности показали су да модификација цемента зеолитом клиноптилолитом и зеолитом који је претходно модификован ZrO_2 / Ag и Zn повећава рН вредност, нарочито у раним мерењима. Ови налази указују да примењене модификације могу значајно унапредити материјал за ретроградну оптурацију у контексту ране контроле инфекције, регенерација ткива и смањење инфламације.

Резултати испитивања рендгенконтрасности указују да модификација цемента зеолитом клиноптилолитом и зеолитом који је претходно модификован ZrO_2 / Ag и Zn може довести до промена ове особине, при чему су код појединих модификација забележене више (модификација зеолитом клиноптилолитом који је претходно модификован ZrO_2 / Ag и Zn), док су код других ниже вредности у односу на немодификовани цемент. Ови налази указују да тип примењене модификације има значајан утицај на рендгенконтрасност материјала, нарочито ако се примењује немодификовани зеолит-клиноптилолит који ниску апсорпцију рендгенских зрака.

Резултати испитивања антимикробних својства показали су да модификација МТА цемента зеолитом клиноптилолитом и зеолитом који је претходно модификован ZrO_2 / Ag и Zn утиче на антимикробни ефекат. Ови налази указују да примењене модификације могу значајно повећати антимикробни ефекат модификованог МТА цемента на *E. faecalis*.

Резултати испитивања биокомпатибилности показали су да модификација МТА цемента зеолитом клиноптилолитом смањује цитотоксични ефекат. МТА цемент модификован зеолитом клиноптилолитом је показао нижу цитотоксичност након 72 сата у поређењу са негативном контролном групом. Ови налази указују да примењене модификације могу значајно смањити цитотоксични ефекат МТА цемента.

Резултати испитивања микропукотине показали су да модификација цемента зеолитом клиноптилолитом и зеолитом који је претходно модификован ZrO_2 / Ag и Zn не утиче на рубно заптивање. Ови налази указују да примењене модификације могу имати сличан ефекат на димензију маргиналне пукотине.

Резултати испитивања имуномодулаторних својстава показали су да комбинованом применом МТА цемента модификованог зеолитом клиноптилолитом и $CoпA$ долази до значајног смањења нивоа проинфламаторних цитокина, а истовремено до повећања нивоа антиинфламаторних цитокина у поређењу са ћелијама третираним само $CoпA$. Ови налази указују да примењена модификација може смањивати проинфламаторне цитокине, а истовремено повећавати антиинфламаторне цитокине.

7. ЛИТЕРАТУРА

1. Karamifar K, Tondari A, Saghiri MA. Endodontic Periapical Lesion: An Overview on the Etiology, Diagnosis and Current Treatment Modalities. *Eur Endod J.* 2020;5(2):54–67.
2. Bronzato JD, Bomfim RA, Hayasida GZP, Cúri M, Estrela C, Paster BJ, et al. Analysis of microorganisms in periapical lesions: A systematic review and meta-analysis. *Arch Oral Biol.* 2021;124:105055.
3. Wang L, Yang F, Qiu Y, Ye L, Song D, Huang D. The Potential Roles of T Cells in Periapical Lesions. *J Endod.* 2022;48(1):70–9.
4. Wen YH, Lin YX, Zhou L, Lin C, Zhang L. The immune landscape in apical periodontitis: From mechanism to therapy. *Int Endod J.* 2024;57(11):1526–45.
5. Pohl S, Akamp T, Smeda M, Uderhardt S, Besold D, Krastl G, et al. Understanding dental pulp in-flammation: from signaling to structure. *Front Immunol.* 2024;15:1–20.
6. García CC, Sempere FV, Diago MP, Bowen EM. The post-endodontic periapical lesion: histologic and etiopathogenic aspects. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2007;12(8):585–90.
7. Aw V. Discuss the role of microorganisms in the aetiology and pathogenesis of periapical disease. *Aust Endod J.* 2016;42(2):53–9.
8. Tibúrcio-Machado CS, Michelin C, Zanatta FB, Gomes MS, Marin JA, Bier CA. The global prevalence of apical periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *Int Endod J.* 2021;54(5):712–35.
9. Liu J, Liu X, Shao Y, Gao Y, Pan K, Jin C, et al. Periapical lesion detection in periapical radiographs using the latest convolutional neural network ConvNeXt and its integrated models. *Sci Rep.* 2024;14(1):1–10.
10. Aminoshariae A, Kulild J, Gutmann J. The association between smoking and periapical periodontitis: a systematic review. *Clin Oral Investig.* 2020;24(2):533–45.
11. La Rosa GRM, Lorenzo-Pouso AI, Caponio VCA, Puci MV. Apical periodontitis in inflammatory bowel disease: a meta-analysis at patient and tooth level. *Front Dent Med.* 2025; 6:1553914.
12. Ye L, Cao L, Song W, Yang C, Tang Q, Yuan Z. Interaction between apical periodontitis and systemic disease (Review). *Int J Mol Med.* 2023;52(1):1–19.
13. Nair PNR. On the causes of persistent apical periodontitis: A review. *Int Endod J.* 2006;39(4):249–81.
14. Sharma A, Sharma R, Sharma M, Jain A. Periapical Lesion: A Single-Sitting Root Canal Treatment. *Cureus.* 2023; 15(4):e37597.
15. Dinger E. Endodontic treatment of teeth with periapical lesions: Case series. *Turkish Endod J.* 2024;9(1):64–70.

16. Alghamdi F, Alhaddad AJ, Abuzinadah S. Healing of Periapical Lesions After Surgical Endodontic Retreatment: A Systematic Review. *Cureus*. 2020; 12(2):e6916.
17. Fernandes M, Ataide I. Nonsurgical management of periapical lesions. *J Conserv Dent*. 2010;13(4):240-5.
18. Al Jallad N, Sun E, Wu T, Cui S, Basmaji A, Thakkar R, et al. The Success of Endodontic Treatments Performed by Dental Residents in Advanced Education in General Dentistry Program: A 10-Year Retrospective Study. *Dent J*. 2025;13(7):1–20.
19. Burns LE, Kim J, Wu Y, Alzwaideh R, McGowan R, Sigurdsson A. Outcomes of primary root canal therapy: An updated systematic review of longitudinal clinical studies published between 2003 and 2020. *Int Endod J*. 2022;55(7):714–31.
20. Mehta D, Coleman A, Lessani M. Success and failure of endodontic treatment: predictability, complications, challenges and maintenance. *Br Dent J*. 2025;238(7):527–35.
21. Liao WC, Lee YL, Tsai YL, Lin HJ, Chang MC, Chang SF, et al. Outcome assessment of apical surgery: A study of 234 teeth. *J Formos Med Assoc*. 2019;118(6):1055–61.
22. Arias Z, Nizami MZI, Chen X, Chai X, Xu B, Kuang C, et al. Recent Advances in Apical Periodontitis Treatment: A Narrative Review. *Bioengineering*. 2023;10(4):1–18.
23. Krastev B, Filipov I. Periapical Surgery. Epidemiology, Indications and Contraindications. Review. *J IMAB*. 2020;26(2):3114–21.
24. Setzer FC, Kratchman SI. Present status and future directions: Surgical endodontics. *Int Endod J*. 2022;55(S4):1020–58.
25. Gutmann JL, Gutmann MS. Historical perspectives on the evolution of surgical procedures in endodontics. *J Hist Dent*. 2010;58(1):1–42.
26. Mustafa M. Historical Perspective in Surgical Endodontics. *Adv Dent Oral Heal*. 2016;3(5). 555603.
27. von Arx T. Apical surgery: A review of current techniques and outcome. *Saudi Dent J*. 2011;23(1):9–15.
28. Bergenholtz G, Hørsted-Bindslev P, Reit C. *Textbook of Endodontology*, 2nd ed. Oxford: Wiley-Blackwell. 2009.
29. Lieblisch SE. Endodontic Surgery. *Dent Clin North Am*. 2012;56(1):121–32.
30. Gagliani MM, Gorni FGM, Strohmenger L. Periapical resurgery versus periapical surgery: A 5-year longitudinal comparison. *Int Endod J*. 2005;38(5):320–7.
31. Wang H, Xu X, Bian Z, Liang J, Chen Z, Hou B, et al. Expert consensus on apical microsurgery. *Int J Oral Sci*. 2025;17(1):1–9.

32. Serrano-Giménez M, Sánchez-Torres A, Gay-Escoda C. Prognostic factors on periapical surgery: A systematic review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2015;20(6):e715–22.
33. Ahmed MA, Mughal N, Abidi SH, Bari MF, Mustafa M, Vohra F, et al. Factors affecting the outcome of periapical surgery, a prospective longitudinal clinical study. *Appl Sci*. 2021;11(24):1–11.
34. López-López J, Jané-Salas E, Martín-González J, Castellanos-Cosano L, Llamas-Carreras JM, Velasco-Ortega E, et al. Tobacco smoking and radiographic periapical status: A retrospective case-control study. *J Endod*. 2012;38(5):584–8.
35. Song M, Chung W, Lee SJ, Kim E. Long-term outcome of the cases classified as successes based on short-term follow-up in endodontic microsurgery. *J Endod*. 2012;38(9):1192–6.
36. Kim E, Song JS, Jung IY, Lee SJ, Kim S. Prospective Clinical Study Evaluating Endodontic Microsurgery Outcomes for Cases with Lesions of Endodontic Origin Compared with Cases with Lesions of Combined Periodontal-Endodontic Origin. *J Endod*. 2008;34(5):546–51.
37. Von Arx T, Peñarrocha M, Jensen S. Prognostic factors in apical surgery with root-end filling: A meta-analysis. *J Endod*. 2010;36(6):957–73.
38. Gilheany PA, Figdor D, Tyas MJ. Apical dentin permeability and microleakage associated with root end resection and retrograde filling. *J Endod*. 1994;20(1):22–6.
39. Arisu HD, Sadik B, Bala O, Türköz E. Computer-assisted evaluation of microleakage after apical resection with laser and conventional techniques. *Lasers Med Sci*. 2008;23(4):415–20.
40. Saunders W, Saunders EM, Saunders WP. Endodontics & Dental Traumatology Coronal leakage as a cause of failure in root- canal therapy: a review. *Endod Dent Traumatol* . 1994;10(3):105–8.
41. Radeva EN, Uzunov T, Kosturkov D. Microleakage associated with retrograde filling after root end resection (in vitro study). *J IMAB*.2014;20(3):578–83.
42. Nepal M, Shubham S, Tripathi R, Khadka J, Kunwar D, Gautam V, et al. Spectrophotometric analysis evaluating apical microleakage in retrograde filling using GIC, MTA and biodentine: An in-vitro study. *BMC Oral Health*. 2020;20(1):1–7.
43. Kunam D, Bode Y, Narra PM, Krishna CHNVM, Reddy SN, Venkateshwarlu M. Comparative evaluation of apical microleakage of mineral trioxide aggregate, Biodentine, and Bio-C Repair as root-end filling materials using dye extraction method: An in vitro study. *J Conserv Dent Endod*. 2024;27(12):1305–9.
44. Mandava P, Bolla N, Thumu J, Vemuri S, Sunil CH. Microleakage evaluation around retrograde filling materials prepared using conventional and ultrasonic techniques. *J Clin Diagnostic Res*. 2015;9(2):ZC43–6.

45. Muliyar S, Shameem KA, Thankachan RP, Francis P, Jayapalan C, Hafiz KA. Emotional Intelligence in Public Relations Instruction: Content Analysis of Introductory Textbooks and Codes of Ethics. *J Int Oral Heal*. 2014;6(6):99–104.
46. Gutmann JL. Surgical endodontics: past, present, and future. *Endod Top*. 2014;30(1):29–43.
47. Singh AR, Verma A, Dixit KK. Comparison of microleakage of root-end filling materials – In vitro study. *Int J Dent Sci Res*. 2013;1(1):6–11.
48. Pushpalatha C, Dhareshwar V, Sowmya S V., Augustine D, Vinothkumar TS, Renugalakshmi A, et al. Modified Mineral Trioxide Aggregate—A Versatile Dental Material: An Insight on Applications and Newer Advancements. *Front Bioeng Biotechnol*. 2022;10:1–15.
49. Vitti RP, Pacheco RR, Silva EJNL, Prati C, Gandolfi MG, Piva E, et al. Addition of phosphates and chlorhexidine to resin-modified MTA materials. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater*. 2019;107(6):2195–201.
50. Paños-Crespo A, Sánchez-Torres A, Gay-Escoda C. Retrograde filling material in periapical surgery: A systematic review. *Med Oral Patol Oral y Cir Bucal*. 2021;26(4):e422–9.
51. Markova K, Manchorova N, Pecheva A. Classification of dental materials for retrograde endodontic filling-an overview. *IOSR J Dent Med Sci*. 2021;20(11):1–05.
52. Biočanin V, Antonijević Đ, Poštić S, Ilić D, Vuković Z, Milić M, et al. Marginal Gaps between 2 Calcium Silicate and Glass Ionomer Cements and Apical Root Dentin. *J Endod*. 2018;44(5):816–21.
53. Berzins DW. Chemical Properties of MTA. *Miner Trioxide Aggreg Prop Clin Appl*. 2014;1993:17–35.
54. Onat Altan H. the Setting Mechanism of Mineral Trioxide Aggregate. *J Istanbul Univ Fac Dent*. 2016;50(1):65–72.
55. Kadali N, Alla RK, Guduri V, AV R, MC SS, Raju RV. Mineral Trioxide Aggregate: an overview of composition, properties and clinical applications. *Int J Dent Mater*. 2020;02(01):11–8.
56. Mestry SU, Kalmegh S, Mhaske ST. Mineral Trioxide Aggregates (MTA) in Dentistry: A Review on Chemistry, Synthesis Methods, and Critical Properties. *Silicon*. 2023;15(5):2231–49.
57. Flores-Ledesma A, Tejeda-Cruz A, Moyaho-Bernal MA, Wintergerst A, Moreno-Vargas YA, Rodríguez-Chávez JA, et al. Physical properties, marginal adaptation and bioactivity of an experimental mineral trioxide aggregate-like cement modified with bioactive materials. *J Oral Sci*. 2023;65(2):141–7.

58. Lim M, Yoo S. The antibacterial activity of mineral trioxide aggregate containing calcium fluoride. *J Dent Sci.* 2022;17(2):836–41.
59. Menezes R, Moraes FG De, Oliveira RC, Letra A, Garcia RB. Subcutaneous tissue reactions to mta , portland cement and an experimental cement. *RevDeClinPesqOdontol.* 2005;1(4):11–3.
60. Ciołek L, Jaegermann Z, Zaczyńska E, Czarny A, Biernat M, Gąsiński A, et al. Cytotoxicity and Antibacterial Activity of Mineral Trioxide Aggregate Cement with Radiopacity Introduced by ZrO₂. *Bioinorg Chem Appl.* 2022; 2022:9574245.
61. Primathena I, Nurdin D, Hermawan H. Cost-Effective Endodontic Sealer Based on Tricalcium Silicate-White Portland Cement. 2021; 14(2):417.
62. Flores-Ledesma A, Barceló Santana F, Bucio L, Arenas-Alatorre JA, Faraji M, Wintergerst AM. Bioactive materials improve some physical properties of a MTA-like cement. *Mater Sci Eng C.* 2017;71:150–5.
63. Garcia LDFR, Santos AD Dos, Moraes JCS, Costa CADS. Cytotoxic effects of new MTA-based cement formulations on fibroblast-like MDPL-20 cells. *Braz Oral Res.* 2016;30(1):1–7.
64. Youssef AR, Elsherief S. Evaluation of the cytotoxic effects of a new Harvard MTA compared to MTA Flow and ProRoot MTA on human gingival fibroblasts. *Saudi Dent J.* 2021;33(7):679–86.
65. Hao J, Lang S, Mante F, Pavelić K, Ozer F. Antimicrobial and mechanical effects of zeolite use in dental materials: A systematic review. *Acta Stomatol Croat.* 2021;55(1):76–89.
66. Esteki P, Jahromi MZ, Tahmourespour A. and calcium - enriched mixture cement against *Enterococcus faecalis* , *Streptococcus mutans* , and *Candida albicans* using the agar diffusion technique. *Dent Res J (Isfahan).* 2021;18:3.
67. Bolhari B, Sooratgar A, Pourhajibagher M, Chitsaz N, Hamraz I. Evaluation of the Antimicrobial Effect of Mineral Trioxide Aggregate Mixed with Fluorohydroxyapatite against *E. faecalis* in Vitro. *Sci World J.* 2021; 2021:6318690.
68. Baek SH, Shin SJ. Root-end fillings using MTA. In: Torabinejad M, editor. *Mineral trioxide aggregate: Properties and clinical applications.* Oxford: Wiley Blackwell. 2014; 251–80.
69. Moon SH, Shin SJ, Oh S, Bae JM. Antibacterial Activity and Sustained Effectiveness of Calcium Silicate-Based Cement as a Root-End Filling Material against *Enterococcus faecalis*. *Materials (Basel).* 2023; 16(18):6124.
70. Ramezanali F, Aryanezhad S, Mohammadian F, Dibaji F, Kharazifard MJ. In vitro microleakage of mineral trioxide aggregate, calcium-enriched mixture cement and biodentine intra-orifice barriers. *Iran Endod J.* 2017;12(2):211–5.

71. Koutroulis A, Kapralos V, Ørstavik D, Sunde PT. Root-filling materials for endodontic surgery: biological and clinical aspect. *Biomater Investig Dent*. 2024;11:115–27.
72. Ha WN, Nicholson T, Kahler B, Walsh LJ. Mineral trioxide aggregate-A review of properties and testing methodologies. *Materials (Basel)*. 2017;10(11):1–18.
73. Caicedo R, Gettleman L. Physical Properties of MTA. In: Torabinejad M, editor. *Mineral trioxide aggregate: Properties and clinical applications*. Oxford: Wiley Blackwell. 2014;37–70.
74. Naiana Viana Viola, Mário Tanomaru Filho, Paulo Sérgio Cerri. MTA versus Portland cement: review of literature. *Rsbo*. 2012;8(4):446–52.
75. Ber BS, Hatton JF, Stewart GP. Chemical Modification of ProRoot MTA to Improve Handling Characteristics and Decrease Setting Time. *J Endod*. 2007;33(10):1231–4.
76. Kragovic M, Dakovic A, Sekulic Z, Trgo M, Urgina M, Peric , Gatta GD. Applied Surface Science Removal of lead from aqueous solutions by using the natural and Fe (III) -modified zeolite. *Applied Surface Science*. 2012;258(8):3667–73.
77. Li LJ, Chu CH, Yu OY. Application of Zeolites and Zeolitic Imidazolate Frameworks in Dentistry—A Narrative Review. *Nanomaterials*. 2023;13(22):2973.
78. Valiyeva MN. COVID-19: A global problem for modern civilization. *Science Without Borders*. 2022;5(5):2-90.
79. Deshpande S, Kheur S, Kheur M, Eyüboğlu TF, Özcan M. A Review on Zeolites and Their Applications in Dentistry. *Curr Oral Heal Reports [Internet]*. 2023;10(2):36–42.
80. Méndez Argüello B, Vera Reyes I, Cárdenas Flores A, Santos Villarreal GD, Ibarra Jiménez L, Lira Saldivar RH. Water holding capacity of substrates containing zeolite and its effect on growth, biomass production and chlorophyll content of *Solanum lycopersicum* Mill. *Nova Scientia*. 2018;10(2):45–60.
81. de Gennaro B, Mercurio M, Cappelletti P, Catalanotti L, Daković A, De Bonis A, Grifa C, Izzo F, Kraković M, Monetti V, Langella A. Use of surface modified natural zeolite (SMNZ) in pharmaceutical preparations. Part 2. A new approach for a fast functionalization of zeolite-rich carriers. *Microporous and Mesoporous Materials*. 2016; 235:42–49.
82. Pezo L, Mijatović N, Stojanović J, Kragović M, Milić L. The effect of alterations in mineral additives (zeolite, bentonite, fly ash) on physico-chemical behavior of Portland cement-based binders. *Construction and Building Materials*. 2018;180:199–210.
83. Marković M, Daković A, Krajisnik D, Kragović M, Milić J, Langella A, et al. Evaluation of the surfactant/phillipsite composites as carriers for diclofenac sodium. *Microporous and Mesoporous Materials*. 2016;222:711–716.
84. Radosavljević-Mihajlović A, Daković A, Kragović M, Milić J. Removal of heavy metals from aqueous solution using natural and Fe(III) oxyhydroxide-modified clinoptilolite. *Applied Clay Science*. 2013;61(6):508–516

85. Rottinghaus GE, Mercurio M, de Gennaro B. Adsorption of the mycotoxin zearalenone by clinoptilolite and phillipsite zeolites treated with cetylpyridinium surfactant. *Mycotoxin Research*. 2016;32(2):81–89.
86. Sekulić ŽT, Daković AS, Kragović MM, Marković MA, Ivošević BB, Kolonja BM. Kvalitet zeolita iz ležišta Vranjska Banja po klasama krupnoće. *Rudarstvo i metalurgija*. 2012;51(4):663–669.
87. Uppal M, Arora G. Evaluation of the Push-out Bond Strength of Mineral Trioxide Aggregate Mixed with Silver Zeolite: An in vitro Study. *Int J Oral Care Res*. 2017;5(4):286–9.
88. Odabaş ME, Çinar Ç, Akça G, Araz I, Ulusu T, Yücel H. Short-term antimicrobial properties of mineral trioxide aggregate with incorporated silver-zeolite. *Dent Traumatol*. 2011;27(3):189–94.
89. Vibulcharoenkitja P, Banomyong D, Sirisinsuk B, Angnanon P, Jiarratanasawat P, Lertsodsai K, et al. Effect of adding zinc oxide and zirconium oxide on decreasing tooth discoloration from mineral trioxide aggregate in a regenerative endodontic model. 2021;41(December 2020):91–6.
90. Ghasemi N, Rahimi S, Samiei M, Mohamadi M, Rezaei Y, Divband B, et al. Effect of the of Zeolite Containing Silver-Zinc Nanoparticles on the Push out Bond Strength of Mineral Trioxide Aggregate in Simulated Furcation Perforation. *J Dent (Shiraz, Iran)*. 2019;20(2):102–6.
91. Ghatole K, Patil A, Giriappa RH, Singh TV, Jyotsna SV, Rairam S. Evaluation of antibacterial efficacy of MTA with and without additives like silver zeolite and chlorhexidine. *J Clin Diagnostic Res*. 2016;10(6):ZC11–4.
92. Yu S, Yan J, Lin W, Zhang J, Long J. Characterization and cracking performance of zirconium-modified Y zeolite. *Catal Commun*. 2021;148:106171.
93. Disk E, Method D, Susceptibility A, Version T. Antimicrobial susceptibility testing EUCAST disk diffusion method. Version 13.0. 2025.
94. Fransson H, Dawson V. Tooth survival after endodontic treatment. 2023;56(2):140–53.
95. Martins B, Georgiou AC, Afreixo A. CBCT-Assessed Outcomes and Prognostic Factors of Primary Endodontic Treatment and Retreatment: A Systematic Review and Meta-Analysis. 2025;51(6):687-706.
96. Attar-attar L, Bernabeu-mira JC, Cervera-ballester J, Peñarrocha-diago M. Systematic review of surgical regenerative treatment for apicomarginal lesions in periapical surgery. 2024;29(3):416–22.
97. Torul D, Kurt S, Kamberoglu K. Apical surgery failures: Extraction or re-surgery? Report of five cases. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*. 2018;12(2):116–9.

98. Ramis-alario A, Tarazona-álvarez B, Peñarrocha-diago M, Soto-peñaloza D. Is periapical surgery follow-up with only two-dimensional radiographs reliable ? A retrospective cohort type sensitivity study. 2021;26(6):e711-e718.
99. Amador-cabezal A, Pardal-pel B, Quispe-l N, Lobato-carreño M. Periapical Surgery . Systematic Review and Meta-Analysis by Groups. 2022; 12(8):1140.
100. Ali M, Papanchev G, Yotsova R, Gerova-vatsova T. The potential role of collagen biomaterials in periapical surgery — a review. 2024;10(2):29–37.
101. Kouzmanova Y, Dimitrova I. Marginal Adaptability of Harvard MTA and Biodentine Used as Root-End Filling Material : A Comparative SEM Study. 2025;18(19):4598.
102. Ashi T, Bourgi R, Cuevas-Suárez CE, Hardan L, Nahat C, Altaqi Z, et al. Healing Ability of Endodontic Filling Materials in Retrograde Treatment: A Systematic Review of Clinical Studies. Appl Sci. 2025;15(12):1–16.
103. Mehdipour A, Mehdipour A, Fateh R, Naseri Z, Aghaali M, Saleh A. In vitro Comparison of Anti-microbial and Anti-adherence Activities of Three New Mineral Trioxide Aggregate Formulations against Species Associated with Failed Endodontic Treatment. 2025;26:336–45.
104. Alzoubi H. Histopathological evaluation of pulp response to portland cement compared to MTA after primary canines pulpotomy (in vivo study). BDJ Open. 2022;8(1):29.
105. Mostafa, A. M. S., Hassan, M. Y. A., Elyasaky, M. A., Niazy, M. A., Masoud, M. A. Setting Time of an Experimental Calcium Silicate Based Cement Versus Angelus White MTA and Sinai White Portland Cement. EC Dental Science. 2018;17(3): 237–243.
106. Seong KP, Jeon SY, Singh B, Hwang JH, Song SJ. Comparative study of an experimental Portland cement and ProRoot MTA by electrochemical impedance spectroscopy. Ceram Int. 2014;40(1 PART B):1741–6.
107. Flores-Ledesma A, Tejeda-Cruz A, Bucio L, Wintergerst AM, Rodríguez-Chávez JA, Moreno-Vargas YA, et al. Hydration products and bioactivity of an experimental MTA-like cement modified with wollastonite and bioactive glass. Ceram Int. 2020;46(10):15963–71.
108. Samiei M, Ghasemi N, Asl-Aminabadi N, Divband B, Golparvar-Dashti Y, Shirazi S. Zeolite-silver-zinc nanoparticles: Biocompatibility and their effect on the compressive strength of mineral trioxide aggregate. J Clin Exp Dent. 2017;9(3):e356–60.
109. Enteghad M, Enteghad M, Zerafat M, Hadian S, Ghahramani Y. Novel Modifications in Endodontic Bioceramics to Improve their Properties : A Narrative Review. 2025;26:289–301.
110. Mohammed SF, Yhaya MF, Nongman AF, Al-rawas M, Arbilei MN, Noorani TY. From Industry to Dentistry : A Comprehensive Review of Zeolite as a Next-Generation Multifunctional Filler for Enhanced Mechanical Reinforcement and Antimicrobial Efficacy. 2025;13(11):540.

111. Kalash A, Tsamesidis I, Pouroutzidou GK, Kontonasaki E, Gkiliopoulos D, Arhakis A, et al. Effect of Modified Bioceramic Mineral Trioxide Aggregate Cement with Mesoporous Nanoparticles on Human Gingival Fibroblasts. 2024;46(4):3005-3021.
112. Abu-seida HSAM, El-korashy AEDI. Physical properties and bioactivity of aloe vera modified tricalcium silicate-based cement. *International Arab Journal of Dentistry (IAJD)*. 2021;15(1):95-105.
113. Galić VO, Stamenić Z, Petrović V, Jokanović V, Živković S. Compressive strength of calcium silicate-based cement. 2018;65:7–13.
114. Grech L, Mallia B, Camilleri J. Investigation of the physical properties of tricalcium silicate cement-based root-end filling materials. *Dent Mater*. 2012;29(2):e20–8.
115. Butt N, Talwar S, Chaudhry S, Nawal RR, Yadav S, Bali A. Comparison of physical and mechanical properties of mineral trioxide aggregate and Biodentine. *Indian J Dent Res*. 2014;25(6):692-7.
116. Guerreiro-tanomaru JM, Vázquez-garcía FA, Bosso-martelo R, Bernardi IB, Faria G, Tanomaru-filho M, et al. Effect of addition of nano-hydroxyapatite on physico-chemical and antibiofilm properties of calcium silicate cements. *J Appl Oral Sci*. 2016;24(3):204-10.
117. Camilleri J. Modification of mineral trioxide aggregate . Physical and mechanical properties. *Int Endod J*. 2008;41(10):843-9.
118. Hayat AT, Shofwa SR, Indra P, Cahyanto A, Nurdin D. *Journal of International Dental and Medical Research*.2023;17(1):51-57.
119. Sciences M. Comparison of Flexural Strength of Mineral Trioxide Aggregate , Calcium-enriched Mixture and BioAggregate. 2018;13(4):554–8.
120. Kharouf N, Zghal J, Addiego F, Gabelout M, Jmal H. Tannic acid speeds up the setting of mineral trioxide aggregate cements and improves its surface and bulk properties. *Colloid Interface Sci*. 202;589:318-326.
121. Ashi T, Mancino D, Hardan L, Bourgi R, Zghal J, Macaluso V, et al. Physicochemical and Antibacterial Properties of Bioactive Retrograde Filling Materials. *Bioengineering (Basel)*;9(11):624.
122. Kim, H. J., Lee, D., Cho, S., Jang, J. H., Kim, S. G., & Kim, S. Y.. Improvement of the bonding properties of mineral trioxide aggregate by elastin-like polypeptide supplementation. *Scanning*. 2019;2019: 484396.
123. Ha WN, Nicholson T, Kahler B, Walsh LJ. Methodologies for measuring the setting times of mineral trioxide aggregate and Portland cement products used in dentistry. *Acta Biomater Odontol Scand*. 2016;2(1):25–30.
124. Çınar Ç, Odabaş M, Gürel MA, Baldağ İ. The effects of incorporation of silver-zeolite on selected properties of mineral trioxide aggregate. 2013;32(6):872–6.

125. Zavare FJ, Nojehdehian H, Moezizadeh M, Daneshpooy M. Chemical modification of MTA and CEM cement to decrease setting time and improve bioactivity properties by adding alkaline salts. *Tabriz Univ Med Sci.* 2020;14(1):1–11.
126. Tabari K, Rahbar M, Safyari L, Safarvand H. Comparison of Compressive Strength and Setting Time of Four Experimental Nanohybrid Mineral Trioxide Aggregates and Angelus Mineral Trioxide Aggregate. *World J Dent* 2017;8(5):386-392.
127. Banava S, Janfeshan Z, Saghiri MA. In-vitro comparison of primary setting time and surface porosity of two types of Mineral Trioxide Aggregate (MTA). *Journal of Islamic Dental Association of IRAN.* 2012;24(4):210–4.
128. de Oliveira MG, Xavier CB, Demarco FF, Pinheiro ALB, Costa AT, Pozza DH. Comparative chemical study of MTA and Portland cements. *Braz Dent J.* 2007;18(1):3–7.
129. Fridland M, Rosado R. MTA solubility: a long term study. *J Endod.* 2005;31(5):376-9.
130. Bodanezi A, Carvalho N, Silva D, Bernardineli N, Bramante CM, Garcia RB, de Moraes IG. Immediate and delayed solubility of mineral trioxide aggregate and Portland cement. *J Appl Oral Sci.* 2008;16(2):127-31.
131. Shahi S, Fakhri E, Yavari H, Maleki Dizaj S, Salatin S, Khezri K. Portland Cement: An Overview as a Root Repair Material. *Biomed Res Int.* 2022;2022:3314912.
132. Makam S, Hiremath G, Naik B. Original Article A comparative study on solubility of root end filling materials - An in vitro study. *Endodontology.* 2025;37(2):p 205-211.
133. Sen HG, Helvacioğlu-Yigit D, Yılmaz A. Radiopacity evaluation of calcium silicate cements. *BMC Oral Health.* 2023;23(1):491.
134. Lin HN, Chen WW, Hsu CC, Chen MS, Chang PJ, Chang WM, Zhang FH, Chen CY, Lee PY, Lin CK. Endodontic Radiopacifying Application of Barium Titanate Prepared through a Combination of Mechanical Milling and Heat Treatment. *Materials (Basel).* 2023;16(23):7270.
135. Al-Hezaimi K, Al-Shalan TA, Naghshbandi J, Oglesby S, Simon JH, Rotstein I. Antibacterial effect of two mineral trioxide aggregate (MTA) preparations against *Enterococcus faecalis* and *Streptococcus sanguis* in vitro. *J Endod.* 2006;32(11):1053-6
136. Shin M, Chen JW, Tsai CY, Apécio R, Zhang W, Yochim JM, Teng N, Torabinejad M. Cytotoxicity and Antimicrobial Effects of a New Fast-Set MTA. *Biomed Res Int.* 2017;2017:2071247.
137. Sivakumar I, Arunachalam KS, Sajjan S, Ramaraju AV, Rao B, Kamaraj B. Incorporation of Antimicrobial Macromolecules in Acrylic Denture Base Resins : A Research Composition and Update. 2014;23:284–90.
138. Koulaouzidou EA, Economides N, Beltes P, Geromichalos G, Papazisis K. In vitro evaluation of the cytotoxicity of ProRoot MTA and MTA Angelus. *J Oral Sci.* 2008;50(4):397-402.

139. Nashibi S, Amdjadi P, Ahmadi S, Hekmatian S, Torshabi M. Physical , chemical and biological properties of MTA Angelus and novel AGM MTA : an in vitro analysis. 2025; 25(1):145.
140. Yoshino P, Nishiyama CK, Cristina K, Santos CF, Sipert CR. 2nd International Conference on Information and Communication Technologies for Ageing Well and e-Health, ICT4AWE 2016. *Commun Comput Inf Sci.* 2017;736:1–139.
141. Ryu JH, Mangal U, Yoo J, Youm JH, Kim JY, Seo JY, Kim D, Kwon JS, Choi SH. Low concentration zinc oxide nanoparticles enrichment enhances bacterial and pro-inflammatory resistance of calcium silicate-based cements. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2024;151:106399.
142. Xavier CB, Weismann R. Root-End Filling Materials : Apical Microleakage and Marginal Adaptation. 2005;31(7):2–5.
143. Alegre P. SEM Evaluation of the Interface Between Filling and Root-End Filling Materials. 2014;36(2):252–7.
144. Meschi N, Patel B, Ruparel NB. Material Pulp Cells and Tissue Interactions. *J Endod.* 2020;46(9S):S150-S160.
145. Barbero-Navarro I, Irigoyen-Camacho ME, Zepeda-Zepeda MA, Ribas-Perez D, Castaño-Seiquer A, Sofian-Pauliuc I. Understanding the Dynamics of Inflammatory Cytokines in Endodontic Diagnosis: A Systematic Review. *Diagnostics (Basel).* 2024;14(11):1099.
146. Arora S, Cooper PR, Friedlander LT, Rizwan S, Seo B, Rich AM, Hussaini HM. Potential application of immunotherapy for modulation of pulp inflammation: opportunities for vital pulp treatment. *Int Endod J.* 2021;54(8):1263-1274.
147. Petean IBF, Silva-Sousa AC, Cronenbold TJ, Mazzi-Chaves JF, Silva LABD, Segato RAB, Castro GAP, Kuchler EC, Paula-Silva FWG, Sousa-Neto MD. Genetic, Cellular and Molecular Aspects involved in Apical Periodontitis. *Braz Dent J.* 2022;33(4):1-11.
148. Allihaibi M, Niazi SA, Farzadi S, Austin R, Ideo F, Cotti E, Mannocci F. Prevalence of apical periodontitis in patients with autoimmune diseases: A case-control study. *Int Endod J.* 2023;56(5):573-583.
149. Hussein H, Kishen A. Local Immunomodulatory Effects of Intracanal Medications in Apical Periodontitis. *J Endod.* 2022;48(4):430-456.
150. Elsalhy M, Azizieh F, Raghupathy R. Cytokines as diagnostic markers of pulpal inflammation. *Int Endod J.* 2013;46(6):573-80.
151. Wen YH, Lin YX, Zhou L, Lin C, Zhang L. The immune landscape in apical periodontitis: From mechanism to therapy. *Int Endod J.* 2024;57(11):1526-1545.
152. Tang M, Tian L, Luo G, Yu X. Interferon-Gamma-Mediated Osteoimmunology. *Front Immunol.* 2018;9:1508.

153. Li S, Liu G, Hu S. Osteoporosis: interferon-gamma-mediated bone remodeling in osteoimmunology. *Front Immunol.* 2024;15:1396122.
154. Lai JH, Hsu YP, Yang CH, Chen YH, Liu CC, Chen SK. Interferon-gamma regulates the levels of bone formation effectors in a stage-dependent manner. *Mol Biol Rep.* 2022;49(12):12007-12015.
155. Oseko F, Yamamoto T, Akamatsu Y, Kanamura N, Iwakura Y, Imanishi J, Kita M. IL-17 is involved in bone resorption in mouse periapical lesions. *Microbiol Immunol.* 2009;53(5):287-94.
156. Xiong H, Wei L, Peng B. The Presence and involvement of interleukin-17 in apical periodontitis. *Int Endod J.* 2019;52(8):1128-1137.
157. Naufel AO, Aguiar MCF, Madeira FM, Abreu LG. Treg and Th17 cells in inflammatory periapical disease: a systematic review. *Braz Oral Res.* 2017;31:e103.
158. Xiong H, Wei L, Peng B. The Presence and involvement of interleukin-17 in apical periodontitis. *Int Endod J.* 2019;52(8):1128-1137.
159. Braz-Silva PH, Bergamini ML, Mardegan AP, De Rosa CS, Hasseus B, Jonasson P. Inflammatory profile of chronic apical periodontitis: a literature review. *Acta Odontol Scand.* 2019;77(3):173-180.
160. Colonello GP, Suffredini IB, Andia DC, Lima AF, Saraceni CHC. Evaluating antimicrobial, cytotoxic and immunomodulatory effects of glass ionomer cement modified by chitosan and hydroxyapatite. *Dent Mater.* 2024;40(8):1305-1311.
161. Guo J, Peters OA, Hosseinpour S. Immunomodulatory Effects of Endodontic Sealers: A Systematic Review. *Dent J (Basel).* 2023;11(2):54.
162. Thein HSS, Hashimoto K, Kawashima N, Noda S, Okiji T. Evaluation of the anti-inflammatory effects of surface-reaction-type pre-reacted glass-ionomer filler containing root canal sealer in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 macrophages. *Dent Mater J.* 2022;41(1):150-158.

Биографија аутора

др Стефан Величковић рођен је 14.12.1991. године у Врању. Основну школу „Бранко Радичевић“ завршио је у. Врању са одличним успехом, као носилац дипломе „Вук Караџић“. Гимназију „Бора Станковић“ природно математички смер завршио је у Врању, такође са одличним успехом. Стоматолошки факултет Универзитета у Београду уписао је школске 2010/11. године, а завршио 6.7.2016. године са просечном оценом 8.92. У четвртој години био је члан “ДенталНет” научно-стручне секције на клиници за Оралну хирургију. Приправнички стаж је одрадио на Стоматолошком факултету Универзитета у Београду и положио државни испит у мају 2017. године. Школске 2017/18. године уписао је Докторске академске студије на Факултету медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу. На Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу 09.03.2023. године положио је специјалистички испит из Оралне хирургије, са одличним успехом. Од 17.10.2017. запослен је на Факултету медицинских наука, где је тренутно у звању асистента за УНО Орална хирургија, на студијском програму Интегрисане академске студије стоматологије.

Библиографија аутора

- 1) Vukovic R, Kumburovic I, Joksimovic Jovic J, Jovicic N, Katanic Stankovic JS, Mihailovic V, Djuric M, Velickovic S, Arnaut A, Selakovic D, Rosic G. N-Acetylcysteine Protects against the Anxiogenic Response to Cisplatin in Rats. *Biomolecules*. 9(12), 2019, 892. doi:10.3390/biom9120892. M21
- 2) Vukovic R, Kumburovic I, Jovicic N, Velickovic S, Arnaut A, Selakovic D. Antioxidant Supplementation with N-Acetylcysteine as a Protection Against Cisplatin-Induced Motor Impairment in Rats. *Ser J Exp Clin Res*. 23(3), 2022, 261-267. doi:10.2478/sjocr-2019-0076. M51
- 3) Kumburovic I, Kumburovic D, Vujovic S, Rajkovic Z, Velickovic S. The effects of *Satureja hortensis* L. Extract on cisplatin-induced behavioral alterations in the tail suspension test. *Ser J Exp Clin Res*. 22(3), 2021, 241-247. doi:10.2478/sjocr-2019-0029. M51
- 4) Velickovic S, Zivic M, Rajkovic Z, Stanisic D, Mistic A and Vasovic M. Analysis of External Root Resorption of the Second Molar Associated with an Impaction of the Third Molar by the Application of CBCT. *Ser J Exp Clin Res*. 22(4), 2021, 343-349. doi: 10.2478/sjocr-2019-0053. M51
- 5) Arsenijevic N, Milenkovic J, Milanovic P, Arnaut A, Jovanovic M, Velickovic S, Scepanovic R, Selakovic D. Does an Alteration in Nociceptive Response to Mineral Components of Dental Composites Involve Changes in Oxidative Status? A brief Report. *EABR*. 24(4), 2023, 271-276. doi: 10.2478/sjocr-2020-0050. M51
- 6) Milojevic-Samanovic A, Zdravkovic D, Velickovic S, Jovanovic M, Milosavljevic M. Non-invasive approach in the treatment of temporomandibular joint osteoarthritis. *Srp Arh Celok Lek*. 149(1-2) 2021, 97-101. doi:https://doi.org/10.2298/SARH200611079M. M23
- 7) Jovanovic M, Milosavljevic M, Zdravkovic D, Živic M, Velickovic S, Jankovic S. Septic arthritis of the temporomandibular joint in adults: Systematic review. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg*. 123(4), 2022, 465-472. doi: 10.1016/j.jormas.2021.09.015. M23
- 8) Milosavljević M, Jovanović M, Folić M, Živić M, Zdravković D, Veličković S, Janković S. Possible association of methotrexate use with osteonecrosis of the jaw: Systematic review. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg*. 123(5), 2022, e458-e463. doi: 10.1016/j.jormas.2022.03.012. M23
- 9) Veličković S, Matijević S, Jovičić B, Bubalo M, Stevanović M, Vasović M. Assessment of location and anatomical characteristics of lingual foramen using cone beam computed tomography. *Vojnosanitetski pregled*. 80(8), 2023, 670-677. doi:https://doi.org/10.2298/VSP221208009V. M23
- 10) Jovičić B, Matijević S, Veličković S, Stevanović M, Mišić A, Stanojević S, Bubalo M. Effectiveness of Plasma-Rich Fibrin and De-Epithelialized Free Gingival Graft in the Treatment of Gingival Recessions. *Medicina*. 59(3), 2023, 447. doi:https://doi.org/10.3390/medicina59030447 M22
- 11) Mladenovic R, Arsic Z, Veličković S, Paunovic M. Assessing the Efficacy of AI Segmentation in Diagnostics of Nine Supernumerary Teeth in a Pediatric Patient. *Diagnostics*. 13(23), 2023, 3563. doi: 10.3390/diagnostics13233563. M21
- 12) Velickovic S, Pavlovic S, Simovic Markovic B, Jovanovic I, Zornic S, Kragovic M, Lisanin R, Milosavljevic M, Mladenovic R, Mistic A, Todorovic VS, Vasovic M. Evaluation of biocompatibility, antimicrobial activity, and immunomodulatory effects of mineral trioxide aggregate modified with zeolite-clinoptilolite as a root-end filling material. *BMC Oral Health*. 2025 Jul 14;25(1):1159. doi: 10.1186/s12903-025-06587-x. M21,

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Изјављујем да докторска дисертација под насловом:

„Утицај модификације минерал триоксид агрегата зеолитом-клиноптилолитом на физичкохемијске, антибактеријске карактеристике и рубно заптивање у апексној оптурацији једнокорених зуба“

представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,

У Крагујевцу, 14.01.2026.године,

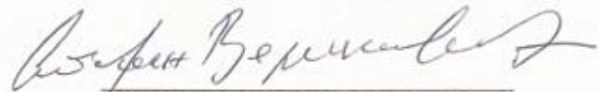

потпис аутора

**ИЗЈАВА АУТОРА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Изјављујем да су штампана и електронска верзија докторске дисертације под насловом:
„Утицај модификације минерал триоксид агрегата зеолитом-клиноптилолитом на
физичкохемијске, антибактеријске карактеристике и рубно заптивање у апексној
оптурацији једнокорених зуба“

истоветне.

У Крагујевцу, 14.01.2026. године,



потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Стефан Величковић

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

„Утицај модификације минерал триоксид агрегата зеолитом-клиноптилолитом на физикохемијске, антибактеријске карактеристике и рубно заптивање у апексној оптурацији једнокорених зуба“

и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

дозвољавам

не дозвољавам¹

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима

6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу, 14.01.2026.године.



потпис аутора

²Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org/rs/>