

Effect of Different Tapered Gutta Percha Cones in Apical Microleakage of Human Root Canal Obturation

Salma Omid¹,
Mahdi Lomee²,
Farshad Bagheri³,
Alireza Rafiei⁴,
Jamshid Yazdani Charati⁵

¹ Assistant Professor, Department of Endodontics, Faculty of Dentistry, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Endodontist, Sari, Iran

³ Resident in Oral and Maxillofacial Radiology, Faculty of Dentistry, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

⁴ Professor, Department of Immunology, Molecular and Cell Biology Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁵ Associate Professor, Department of Biostatistics, Health Sciences Research Center, Addiction Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received November 2, 2018 ; Accepted December 2, 2019)

Abstract

Background and purpose: Gutta-percha is generally accepted as the main canal filler. Standard gutta-percha cones are available in 2-10% tapers. The purpose of this study was to compare apical microleakage of canals obturated with different tapers of gutta-percha, using the protein penetration technique.

Materials and methods: In this study, 96 maxillary anterior teeth were selected and were prepared by protaper rotary files. The teeth were divided into six experimental groups (n=15) and two control groups (n=3). All groups were obturated with different tapered master cone (2-4-6%) and accessory cone (2-4%) by lateral condensation technique. Protein microleakage was measured in each sample. Data was analyzed applying Kruskal-Wallis test and Mann Whitney test.

Results: Statistical analysis showed significant differences between all experimental groups (P<0.001). The least levels of microleakage were seen in the group treated with 2% master cone and 2% accessory cone, while the highest levels were found in teeth obturated with 4% master cone and 2% accessory cone.

Conclusion: In this study, 2% master cone and 2% accessory cone caused least microleakage, but the 6% master cone and 4% accessory cone also showed good results.

Keywords: apical microleakage, protein penetration, root canal obturation, tapered Gutta-Percha

J Mazandaran Univ Med Sci 2020; 29 (181): 61-72 (Persian).

* **Corresponding Author: Salma Omid** - Faculty of Dentistry, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
(E-mail: salmaomidi@yahoo.com)

اثر تقارب های متفاوت گوتا پرکا بر میزان ریزنشت اپیکالی کانال های پر شده دندان انسان

سلما امیدی¹
مهدی لمعی²
فرشاد باقری³
علیرضا رفیعی⁴
جمشید یزدانی چراتی⁵

چکیده

سابقه و هدف: گوتا پرکا به عنوان ماده اصلی پرکننده کانال، مورد قبول عموم است. مخروطهای استاندارد گوتا پرکا در درجه تقارب های 10-2 درصد موجود می باشند. هدف از انجام این پژوهش، مقایسه ریزنشت اپیکالی کانال های پر شده با مخروطهای گوتا پرکا با درجه های تقارب های مختلف با استفاده از روش نفوذ پروتئین است.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی، 96 دندان قدامی تک کانال ماگزایلا انتخاب شد. سپس تاج این دندان ها جدا گردید و نمونه ها، با استفاده از فایل روتاری پروتئیر آماده سازی شدند. دندان ها به شش گروه آزمایشی 15 تایی و دو گروه کنترل 3 تایی تقسیم شدند. در هر یک از گروه ها پر کردن کانال ها با استفاده از مستر کن با تقارب های متفاوت (4-2 و 6) درصد و کن فرعی با تقارب های متفاوت (2 و 4) درصد با روش تراکم جانبی انجام شد سپس میزان ریزنشت پروتئین در هر نمونه با استفاده از آزمون های کروسکال والیس و من ویتنی بررسی شد.

یافته ها: در مقایسه هر 6 گروه با هم، تفاوت معنی دار بود ($P < 0/001$). کم ترین ریزنشت در گروه مستر کن 2 درصد و کن فرعی 2 درصد و بیش ترین ریزنشت در گروه مستر کن 4 درصد و کن فرعی 2 درصد، مشاهده شد.

استنتاج: در چارچوب مطالعه حاضر، استفاده از مستر کن 2 درصد به همراه کن فرعی 2 درصد، کم ترین بروز ریزنشت را در پی دارد. هرچند که کن اصلی 6 درصد به همراه کن فرعی 4 درصد نتایج خوبی به همراه داشت.

واژه های کلیدی: میکرولیکیج اپیکال، نفوذ پروتئین، پر کردن کانال، گوتا پرکا تقارب دار

مقدمه

است (1،2). کیفیت پرکردگی کانال برای دستیابی به یک درمان اندودنتیک موفق، از طریق جلوگیری از ریزنشت میکروارگانیزم ها و محصولات آن ها به بافت های پری رادیکولر، مسأله ای مهم می باشد (3،4). Ingle و همکاران گزارش کردند که 60 درصد از شکست های

بیماری های پالپ و پری اپیکال در نتیجه حضور باکتری ها و محصولات متابولیک آن ها درون کانال و نفوذشان به فضای پری رادیکولر ایجاد می شوند. بنابراین هدف اصلی درمان اندودنتیک، حذف این عوامل از سیستم کانال و پر کردن سه بعدی فضای ریشه ای

E-mail: salmaomidi@yahoo.com

مؤلف مسئول: سلما امیدی - ساری: بلوار خزر، کلینیک طبوبی، دانشکده دندانپزشکی

1. استادیار، گروه اندو، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

2. متخصص اندو، ساری، ایران

3. دستیار رادیولوژی دهان و فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

4. استاد، گروه ایمونولوژی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

5. دانشیار، گروه آمار زیستی، مرکز تحقیقات علوم بهداشتی، پژوهشکده اعتیاد، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: 1397/8/19 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1397/8/22 تاریخ تصویب: 1398/9/11

مولکول‌ها از حد فاصل ماده پرکردگی تاج/ریشه و دیواره‌های حفره گفته می‌شود. این عامل، فاکتور عمده‌ای است که می‌تواند موفقیت طولانی مدت درمان اندودنتیک را تهدید نماید. به‌طور کلی ریزش در دو گروه ریزش اپیکالی و ریزش کرونالی مورد مطالعه قرار می‌گیرد. ریزش اپیکالی به عنوان علت معمول شکست درمان اندودنتیک در نظر گرفته شده که خود تحت تأثیر متغیرهایی مثل روش‌های مختلف پرکردگی، خصوصیات شیمیایی و فیزیکی ماده پرکننده کانال و حضور یا غیاب لایه اسمیر می‌باشد. روش‌های گوناگونی جهت ارزیابی و سنجش ریزش و استفاده از آن برای بررسی کیفیت درمان اندودنتیک ارائه شده است (11، 12)، که شامل روش نفوذ رنگ، شفاف‌سازی، رادیو ایزوتوپ، الکتروشیمیایی، فلورید فیلتراسیون، تطابق لبه‌ای و نفوذ پروتئین می‌باشد که هر کدام دارای مزایا و معایبی هستند. اما در این میان سنجش نفوذ پروتئین به روش برد فورد به علت این که نسبت به سایر روش‌ها سریع‌تر و آسان‌تر بوده و قابل تکرار است مورد استفاده قرار گرفته است. همچنین، روش نشت پروتئین به دلیل ارتباط کلینیکال و نیز عدم نیاز به تخریب نمونه‌ها که ارزیابی مکرر ریزش را در صورت نیاز ممکن می‌سازد، در مقایسه با روش‌های دیگری که برای ارزیابی لیکج در زمینه تحقیقات اندودنتیک وجود دارد، اهمیت روزافزونی یافته است (13). تا به حال مطالعات متعددی در زمینه تاثیر گوتا پرکا اصلی (Master con) با تقارب‌های متفاوت بر سیل اپیکالی انجام شده است، اما مطالعه‌ای که تاثیر تقارب گوتا فرعی (accessory con) به تنهایی یا همراه با کن اصلی را بر میزان سیل اپیکالی نشان دهد انجام نشده است. لذا هدف از انجام این پژوهش، اندازه‌گیری و مقایسه ریزش اپیکالی کانال‌های پر شده با مخروط‌های گوتا پرکا اصلی و فرعی با درجه تقارب‌های مختلف به روش تراکم جانبی، با استفاده از روش نفوذ پروتئین می‌باشد.

درمان اندودنتیک به دلیل پرکردن ناکامل و نامناسب کانال و ریزش آن اتفاق افتاده است (5). پرکردن سه بعدی کانال ریشه به منظور به حداکثر رساندن ماده جامد اصلی پرکننده و به حداقل رساندن مقدار سیلر، یکی از اهداف درمان ریشه محسوب می‌شود (6). مواد پرکننده اصلی کانال معمولاً جامد یا نیمه جامد هستند. برای تمام مواد پرکننده اصلی کانال کاربرد سیلر ضروری است (7). مواد جامد نسبت به مواد نیمه جامد (خمیر) مزایای بیش تری دارند. گرچه مواد مختلفی مورد آزمایش قرار گرفته‌اند، فقط گوتا پرکا به عنوان ماده‌ی اصلی پرکننده سیستم کانال، متداول و قابل قبول عموم است (8). مخروط‌های گوتا پرکا معمولاً به دو شکل استاندارد و معمولی وجود دارند. مخروط استاندارد گوتا پرکا مطابق با اندازه فایل‌ها از شماره 15 تا 140 و با درجه‌ی تقارب 2 درصد و بیش‌تر (4، 6، 8 و 10) درصد، موجود می‌باشد (9). روش تراکم جانبی رایج‌ترین روش پرکردن کانال است. این روش اغلب به عنوان روش استاندارد برای مقایسه با روش‌های جدیدتر نیز در نظر گرفته می‌شود. پرکردن کانال به روش تراکم جانبی با گوتا پرکا بطور مرسوم با استفاده از گوتا پرکای با تقارب استاندارد 2 درصد انجام می‌شود که با افزودن مخروط‌های گوتا پرکای فرعی استاندارد در کانال و تراکم آن‌ها به وسیله اسپریدر ادامه می‌یابد. این روند وقت‌گیر بوده و پتانسیل وارد کردن نیروی زیاد به ریشه را دارد که ممکن است منجر به شکستگی ریشه گردد (10). از طرفی در طی سال‌های اخیر انواع متفاوتی از تیپرهای گوتا پرکا به بازار معرفی شده است که در طی درمان اندودنتیک استفاده می‌شوند. این مخروط‌ها به عنوان مخروط اصلی و نیز مخروط فرعی در طی روند پر کردن کانال استفاده می‌شوند. حال پرسشی که به ذهن می‌رسد این است که آیا این مخروط‌ها با تیپر متفاوت سیل قابل قبولی در مقایسه با مخروط‌های رایج با تیپر استاندارد 2 درصد ایجاد می‌کنند یا خیر؟ ریزش، به نفوذ باکتری‌ها، مایعات دهان، یون‌ها و

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی، که در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مازندران تایید شد (کد: IR.MAZUMS.REC.94-1771) 96 عدد دندان تک کاناله تازه کشیده شده مورد مطالعه قرار گرفتند. شرط ورود به مطالعه نداشتن پوسیدگی و شکستگی در سطح ریشه، کلسیفیکاسیون، تحلیل داخلی و خارجی، انحناء شدید و آپکس بازبودن. به منظور تأیید دندان‌ها رادیوگرافی اولیه، از نمای باکولینگوالی و مزودیستالی به عمل آمد.

آماده سازی نمونه ها

ابتدا هر گونه جرم و انساج باقیمانده در روی سطوح ریشه با استفاده از کورت پرپودنتال جدا گردید و سپس جهت حذف مواد ارگانیک از روی سطح ریشه، نمونه‌ها به مدت یک ساعت در محلول هیپوکلریت سدیم 5/25 درصد قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها در محلول نرمال سالین ذخیره شده و قبل و حین آزمایش به صورت مرطوب نگهداری شدند. تاج دندان‌ها توسط فرز فیشور الماسی (Tizkavan, Tehran, Iran) با استفاده از هندپیس پرسرعت به همراه خنک کننده آب جدا شد، به گونه ای که هر کدام از ریشه‌ها 14 میلی متر طول داشته باشد. جهت تعیین طول کارکرد کانال، ابتدا یک K فایل شماره 15 (Mani Inc, Tochigi, Japan) را وارد کانال نمودیم، تا جایی که نوک آن از آپکس خارج شود. سپس 1 میلی متر از این طول کم کرده و آن را به عنوان طول کارکرد در نظر گرفتیم. در ابتدا برای دسترسی مستقیم به ناحیه کروئال کانال‌ها از دریل‌های گیتس-کلیدن شماره 2، 3 و 4 (Mani Inc, Tochigi, Japan) به وسیله هندپیس کم سرعت استفاده شد. سپس کانال‌ها با استفاده از سیستم روتاری پروتپیور (Dentsply-maillefer, Ballaigues, Switzerland) آماده سازی شدند، به طوری که ناحیه اپیکال کانال تا فایل F3 آماده سازی شود. پس از استفاده از هر

وسيله، 5 ml محلول هیپوکلریت سدیم 2/5 درصد (Golrang Co., Tehran, Iran) با استفاده از سرنگ شستشو با نیدل گیج 27 جهت شستشوی کانال به کار رفت. متعاقب آماده سازی کانال، اسمیر لایر با 17% EDTA (Diadent Inc., Chongchong Buch Do, Korea) به مدت 3 دقیقه حذف شد. سپس تمامی نمونه‌ها با محلول هیپوکلریت سدیم 2/5 درصد شستشو داده شده و کانال‌ها با پیپر پوینت‌های استریل (Ariadent, Tehran, Iran) خشک شدند. تمامی مراحل توسط یک عمل کننده انجام شد. پس از اتمام مراحل آماده سازی کانال، دندان‌ها را به طور تصادفی در شش گروه آزمایشی 15 تایی و دو گروه کنترل مثبت و منفی 3 تایی قرار دادیم.

برای آبجوریشن تمام گروه‌ها از سیلر AH26 (Dentsply, Tulsa Dental, Tulsa, OK, USA) و روش تراکم جانبی بهره برده شد. در گروه اول، دندان‌ها با استفاده از مخروط اصلی گوتا پرکا (Meta Biomed Co., Seoul, Korea) شماره 30 با تیپر 2 درصد و کن‌های فرعی شماره 20 با تیپر 2 درصد آبجوره شدند. به این صورت که بعد از قرار دادن سیلر AH26 در کانال به وسیله فایل شماره 30، مسترکن شماره 30 آغشته به سیلر را به طول کارکرد برده و توسط اسپریدر انگشتی با اندازه مناسب (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) تراکم کردیم. اسپریدر مناسب اسپریدری است که تا 1 تا 2 میلی متری طول کارکرد داخل شده و زمانی که همراه با مخروط اصلی در کانال قرار داده می‌شود، تا 2 میلی متری طول کارکرد برسد. کن‌های فرعی گوتا پرکا تا زمانی که اسپریدر نتواند بیش تر از یک سوم کروئالی کانال نفوذ کند، در کانال قرار داده شدند. اضافات گوتا پرکا به وسیله Heat Carrier در سطح اوریفیس کانال قطع شده و سپس گوتا پرکای ناحیه کروئال به وسیله پلاگر فشرده شد. همین روش در سایر گروه‌ها انجام شد. گروه‌های آزمایشی به شرح زیر بودند:

گروه 1: مسترکن 30-2 درصد و کن فرعی 20-2 درصد

داده و سپس هر کدام از میکروتیوب‌های حاوی نمونه‌ها را در یک لوله آزمایش (محفظه تحتانی) حاوی محلول PBS فیلتر شده جایگذاری کردیم. سپس جهت اطمینان از سیل لبه‌ها، اطراف ناحیه اتصال میکروتیوب به لوله آزمایش توسط چند لایه پارافیلیم (Supa Co., Tehran, Iran) به‌طور کامل درزبندی شد تا بدین طریق، از آلودگی چمبر تحتانی جلوگیری شود.



تصویر شماره 1: نمونه‌ها مطابق شکل داخل میکروتیوب قرار گرفتند

روند آزمایش نفوذ پروتئین

پس از انجام مراحل فوق، چمبر فوقانی نمونه‌های ذکر شده، با محلول فیلتر شده آلبومین سرم گاوی (BSA) 1% (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) پر شده و به‌طور مرتب هر سه روز یک بار تا 60 روز، مقدار BSA موجود در میکروتیوب‌ها کنترل و تجزید شد. نمونه‌ها در 3 مرحله با فاصله زمانی 15، 30 و 60 روزه از ابتدای آزمایش، از نظر نشت پروتئین BSA مورد ارزیابی قرار گرفتند. بدین ترتیب که ابتدا نمونه‌ها به داخل هود کلاس II بیولوژیک منتقل شده و پس از برداشتن لایه‌های پارافیلیم، مقدار 50 μ L از محلول چمبر تحتانی هر کدام استخراج شده و به داخل میکروتیوب‌های استریل شماره گذاری شده انتقال یافت. سپس از هر کدام از میکروتیوب‌های حاوی مقادیر استخراج شده، مقدار 5 μ L به داخل خانه‌های شماره گذاری شده یک میکروپلیت (Corning Incorporated, Corning, NY, USA) منتقل شد. شش خانه اول میکروپلیت نیز به محلول‌های استاندارد BSA اختصاص داده شد تا به وسیله آن، نمودار

گروه 2: مسترکن 2-30 درصد و کن فرعی 4-15 درصد
گروه 3: مسترکن 4-30 درصد و کن فرعی 2-20 درصد
گروه 4: مسترکن 4-30 درصد و کن فرعی 4-15 درصد
گروه 5: مسترکن 6-30 درصد و کن فرعی 2-20 درصد
گروه 6: مسترکن 6-30 درصد و کن فرعی 4-15 درصد

در گروه کنترل مثبت سه نمونه آماده‌سازی شده ولی پر نشدند. در گروه کنترل منفی ابتدا سه نمونه آماده‌سازی و پر شدند و سپس تمام سطوح خارجی آن‌ها با 2 لایه لاک ناخن پوشانده شد. همچنین سطوح بیرونی تمام نمونه‌های آزمون نیز پس از تأیید کیفیت آبجوریشن به وسیله رادیوگرافی، با دو لایه لاک ناخن پوشانده شد، به طوری که 2 میلی‌متر اپیکال ریشه و نیز اوریفیس کانال بدون لاک باقی ماند. سپس تمامی نمونه‌ها جهت سخت شدن کامل سیلر، به مدت 72 ساعت در انکوباتور (دما 37 درجه سانتیگراد و رطوبت 100 درصد) نگهداری شدند.

آماده‌سازی نمونه‌ها برای آزمایش نفوذ پروتئین

هر یک از دندان‌ها در یک میکروتیوب با قطر 2 میلی‌لیتر (محفظه فوقانی) (Genfanavarar, Tehran, Iran) که 2 میلی‌متر انتهایی آن قطع شده، قرار گرفتند؛ به طوری که قسمتی از ناحیه اپیکال ریشه از انتهای آن خارج شد. ناحیه اتصال نمونه‌ها و سطح داخلی میکروتیوب با چسب سیانوآکریلات زودسخت شونده ۱،۲،۳ (Mitreapel, Beta. Chemical Ind. & Trade Inc.) (Co., Istanbul, Turkey) سیل شدند (تصویر شماره 1).

سپس این میکروتیوب‌های حاوی نمونه‌ها، توسط گاز اتیلن‌اکساید، استریل و داخل پک استریل نگهداری شدند. پس از آن، لوله‌های آزمایش 10 میلی‌لیتری در داخل دستگاه اتو کلاو (Kavooshmega Co., Tehran, Iran) استریل شدند. میکروتیوب‌های حاوی نمونه و نیز لوله‌های آزمایش استریل را جهت محافظت در برابر آلودگی، به داخل هود آزمایشگاهی کلاس II بیولوژیک (Bio-Safe Corporation, Miami, Florida, USA) انتقال

Microplate Reader که یک اسپکتروفتومتر تخصصی است (Biotech microplate reader ELX808, USA) قرار دادیم تا جذب نوری (OD) هر کدام از محلول‌ها را در طول موج 595 نانومتر به دست آوریم.

در نهایت با استفاده از OD و غلظت پروتئین محلول‌های استاندارد، نمودار منحنی استاندارد به کمک نرم‌افزار Microsoft Office Excel 2013 ترسیم شده و به وسیله آن، غلظت پروتئین موجود در محفظه تحتانی هر نمونه بدست آمد. این روند را در هر 3 بازه زمانی تعیین شده، تکرار کرده و غلظت را اندازه گیری کردیم.

آنالیز آماری داده‌ها

داده‌های بدست آمده از گروه‌های مورد مطالعه، توسط نرم‌افزار آماری SPSS ver.22 با آزمون‌های غیرپارامتریک Kruskal-Wallis H و Mann-Whitney U و با در نظر گرفتن سطح معنی داری 0/05 مورد تحلیل آماری قرار گرفتند.

یافته‌ها

مقایسه میانگین مقادیر ریزنشست گروه‌ها در مجموع سه دوره پس از انجام آزمایش، گروه کنترل مثبت بیشترین ریزنشست پروتئین را نشان داد، در حالی که در گروه کنترل منفی ریزنشستی دیده نشد. طبق نتایج حاصل از آزمون کروسکال والیس، تفاوت معنی داری بین گروه‌های آزمایش مشاهده شد ($P < 0/001$)؛ به طوری که گروه 3 (مسترکن 4 درصد به همراه کن فرعی 2 درصد) دارای بیشترین ریزنشست و گروه 1 (مسترکن 2 درصد به همراه کن فرعی 2 درصد) نیز دارای کمترین ریزنشست بودند (جدول شماره 1). نمودار شماره 1 نیز میانگین رتبه‌ای هر یک از گروه‌ها را نشان می‌دهد که میزان ریزنشست بین گروه‌ها به طور خلاصه به این صورت است: مسترکن 4% - فرعی 2% < مسترکن 4% - فرعی 4% < مسترکن 2% - فرعی 2% < مسترکن 4% - فرعی 4% < مسترکن 2% - فرعی 2% < مسترکن 6% - فرعی 4% < مسترکن 2% - فرعی 2%.

منحنی استاندارد ترسیم شود. در نهایت مقدار 150 μ l معرف بردفورد (Sigma, Aldrich, st, Louis, USA) به هر خانه اضافه گردید.

تهیه معرف بردفورد

جهت تهیه معرف بردفورد، 10 میلی گرم رنگ کوماسی بریلینت بلو G-250 را در 5 میلی لیتر اتانول 95 درصد حل کرده و سپس 10 میلی لیتر اسید ارتوفسفریک 85 درصد به آن افزوده شد. پس از این که رنگ به طور کامل حل گردید، حجم را با آب مقطر به حجم 100 میلی لیتر رساندیم. محلول حاصل که به رنگ قهوه‌ای روشن می‌باشد، توسط کاغذ صافی واتمن صاف شد تا ذرات معلق آن گرفته شود. این محلول در ظرفی تیره و در داخل یخچال نگهداری شد.

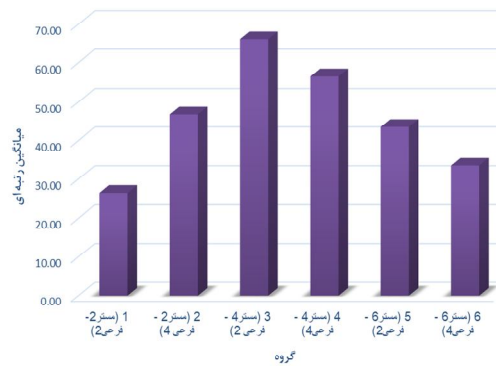
محلول استاندارد پروتئین

برای این که غلظت پروتئین موجود در یک محلول را به روش بردفورد به دست آوریم نیاز است ابتدا یک منحنی استاندارد ترسیم شود. بدین منظور، پروتئین ایده آلی که به عنوان استاندارد می‌توان در نظر گرفت، فرم خالص همان پروتئین مورد سنجش، یعنی BSA می‌باشد. به طور کلی برای سنجش پروتئین به روش بردفورد، دو نوع پروتئین BSA و گاما گلوبولین به عنوان استاندارد به کار می‌روند. جهت این کار باید با استفاده از پروتئین BSA، غلظت‌های مختلفی از محلول استاندارد پروتئین (حداقل سه استاندارد با غلظت بین 20 μ g/ μ l تا 200) تهیه شده و جذب نوری آن‌ها توسط اسپکتروفتومتر در طول موج 595 نانومتر سنجیده شود.

در پژوهش حاضر، 6 خانه اول میکروپلیت به غلظت‌های مختلف محلول استاندارد اختصاص داده شد. در نهایت 150 میکرولیتر از معرف بردفورد به تمام خانه‌های میکروپلیت (محلول‌های استاندارد و محلول‌های استخراج شده از نمونه‌ها) اضافه و به آرامی مخلوط گردید. بعد از گذشت مدت 5 دقیقه از اضافه نمودن محلول بردفورد، میکروپلیت را در داخل دستگاه

جدول شماره 1: توصیف و مقایسه میانگین مقادیر ریزنشست گروه ها با آزمون کروسکال والیس

گروه	تعداد	مینیم	ماکزیم	آمار توصیفی		آزمون کروسکال-والیس
				میانگین	انحراف معیار	
1 (مستر کن 2%- فرعی 2%)	15	0.0000	7/3486	0/897426	1/8335215	نتیجه
2 (مستر کن 2%- فرعی 4%)	15	0.0000	10/6015	2/866069	3/4574924	
3 (مستر کن 4%- فرعی 2%)	15	0/7114	12/9466	5/537643	4/1992393	
4 (مستر کن 4%- فرعی 4%)	15	0/1062	11/7416	4/093361	3/8227175	P < 0/001
5 (مستر کن 6%- فرعی 2%)	15	0.0000	10/5564	3/078846	3/7469321	
6 (مستر کن 6%- فرعی 4%)	15	0.0000	6/4156	1/339056	1/7770723	



نمودار شماره 1: میانگین رتبه‌ای میزان ریزنشست هر گروه براساس آزمون کروسکال والیس

سپس از آزمون غیر پارامتریک من ویتنی برای پیگیری تفاوت در بین هر کدام از گروه‌ها با هم استفاده شد. بدین منظور، مقدار P به دلیل 15 مقایسه انجام شده با اصلاح سطح معنی‌داری، 0/003 (0/05 بر 15) در نظر گرفته شد. نتایج حاصله به این صورت بود که تفاوت معنادار فقط بین گروه‌های 1 و 3، 4 و همچنین بین گروه 3 و 6 مشاهده شد که به صورت زیر بود:

گروه 3 < گروه 1

گروه 4 < گروه 1

گروه 3 < گروه 6

تأثیر درجه تقارب مسترکن بر میزان ریزنشست، در مقایسه سه تایی بین گروه‌های با کن فرعی 2 درصد

در مقایسه سه تایی در گروه‌هایی با کن فرعی 2 درصد میزان ریزنشست به صورت معنی‌داری متفاوت بود که تفاوت آن‌ها به صورت زیر می‌باشد. به طوری که دندان‌هایی با مستر کن 4 درصد بیش‌ترین ریزنشست و

دندان‌ها با مستر کن 2 درصد کم‌ترین ریزنشست را نشان دادند (تفاوت معنی‌دار بود) (P=0/001).

مستر کن 4% < مستر کن 6% < مستر کن 2%.

تأثیر درجه تقارب مسترکن بر میزان ریزنشست، در مقایسه سه تایی بین گروه‌های با کن فرعی 4 درصد

در مقایسه سه تایی در گروه‌هایی با کن فرعی 4 درصد میزان ریزنشست به صورت معنی‌داری متفاوت بود که تفاوت آن‌ها به صورت زیر می‌باشد. به طوری که دندان‌هایی با مستر کن 4 درصد بیش‌ترین ریزنشست و دندان‌ها با مستر کن 6 درصد کم‌ترین ریزنشست را نشان دادند (تفاوت معنی‌داری دیده شد) (P=0/04).

مستر کن 4% < مستر کن 2% < مستر کن 6%

بررسی تأثیر درجه تقارب کن فرعی بر میزان ریزنشست مقایسه یک به یک گروه‌های با درجه تقارب مسترکن مشابه در نظر گرفته شد که تفاوت معنی‌دار بین هیچ یک وجود نداشت. بر این اساس، صرفاً تغییر درجه تقارب کن‌های فرعی بدون تغییر در درجه تقارب مسترکن تأثیر چشمگیری بر میزان ریزنشست ندارد.

مقایسه میانگین ریزنشست گروه‌های 1 تا 6 در سه دوره زمانی 15 روز، 30 روز و 60 روز

همان‌طور که در جدول شماره 2 نیز مشاهده می‌شود، در روز 15 ام، میانگین ریزنشست در گروه مسترکن 4 درصد به همراه کن فرعی 4 درصد بیش‌ترین و در گروه مسترکن 2 درصد به همراه کن فرعی 4 درصد کم‌ترین مقدار را داشته است. در هر دو روز 30 ام و 60 ام و نیز در مجموع، گروه مسترکن 2 درصد به همراه کن فرعی 2 درصد و گروه مسترکن 4 درصد به همراه کن فرعی 2 درصد به ترتیب کم‌ترین و بیش‌ترین ریزنشست را نشان دادند. همچنین به طور کلی مشاهده می‌شود که میزان ریزنشست با گذر زمان در همه گروه‌ها افزایش می‌یابد.

جدول شماره 2: مقایسه میانگین ریزنشست گروه های 1 تا 6 در دوره های زمانی 15 روز، 30 روز، 60 روز و مجموع

گروه	میانگین غلظت پروتئین BSA نشست کرده با واحد $\mu\text{g}/\mu\text{l}$		
	روز 15	روز 30	روز 60
1 (مسترکن 2% - فرعی 2%)	0062673	0073833	2555767
2 (مسترکن 2% - فرعی 4%)	0/00612	0971853	71620233
3 (مسترکن 4% - فرعی 2%)	0058707	1827053	14772716
4 (مسترکن 4% - فرعی 4%)	0800053	1629627	9850387
5 (مسترکن 6% - فرعی 2%)	0088967	1/109847	8/037727
6 (مسترکن 6% - فرعی 4%)	0/50574	0704587	2/80684
مجموع			

بحث

بر طبق نتایج مطالعه در مقایسه 6 گروه با هم، گروه 1 (مسترکن 2 درصد به همراه کن فرعی 2 درصد) کمترین بروز ریزنشست را دارا بود. اگرچه در بررسی دو به دو گروه ها فقط بین این گروه و گروه های 3 (مستر 4 فرعی 2) و 4 (مستر 4 و فرعی 4) اختلاف معنی دار بود. میزان ریزنشست با گروه 6 (مستر 6 و فرعی 4) بسیار نزدیک بود. در ادامه به تفاوت ها و شباهت ها در این مطالعه و سایر مطالعات می پردازیم.

در این مطالعه به منظور همسان سازی نمونه ها، ابتدا تاج دندان ها قطع شد، به طوری که هر یک از نمونه ها طول یکسان 14 میلی متری داشتند. سپس آماده سازی همه نمونه ها با روندی مشابه، با استفاده از فایل های روتاری سیستم پروتیبور، تا فایل F3 انجام شد تا کمترین اختلاف را با هم داشته باشند. در دیگر مطالعات نیز عمدتاً از فایل های روتاری استفاده شده است. هر چند «ساعتچی» و همکاران نیز به روش دستی و با تکنیک استپ - بک کانال ها را آماده سازی کردند (14). روش روتاری به علت کاهش خطاهای عمل کننده بیش تر مورد قبول است.

در این پژوهش همه نمونه ها پس از آماده سازی، با استفاده از تکنیک تراکم جانبی و سیلر AH26 با مسترکن و کن های فرعی با تقاربات های مورد مطالعه پر شدند. اضافات گوتا پرکا در حد اوریفیس کانال قطع و توسط پلاگر فشرده شد. مطابق مطالعات مشابه، روی ماده پرکردگی کانال، ماده ترمیم موقت قرار داده نشد تا صرفاً ریزنشست مسترکن و کن های فرعی با تقاربات های

مورد مطالعه بررسی شده و از تداخل ماده ترمیم موقت در میزان ریزنشست ثبت شده اجتناب شود (3-19-15). با مروری بر مطالعات صورت گرفته این نکته حاصل می شود که در هیچ یک از این مطالعات، به تأثیر تقارب کن فرعی بر روی میزان ریزنشست پرداخته نشده است. در پژوهش حاضر، درجه تقارب مسترکن و کن های فرعی، هر دو مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور، مسترکن های با درجه تقارب های 2، 4 و 6 درصد در ترکیب با کن های فرعی 2 و 4 درصد در 6 گروه جهت پر کردن کانال استفاده شدند.

ریزنشت اپیکالی به عنوان علت معمول شکست درمان اندودنتیک در نظر گرفته شده که خود تحت تأثیر متغیرهایی مثل روش های مختلف پرکردگی، خصوصیات شیمیایی و فیزیکی ماده پرکننده کانال و حضور یا غیاب لایه اسمیر می باشد. روش های گوناگونی جهت ارزیابی و سنجش ریزنشست و استفاده از آن برای بررسی کیفیت درمان اندودنتیک ارائه شده است که هر کدام مزایا و معایب خود را دارند. این روش ها عبارتند از: روش نفوذ رنگ، شفاف نمودن، رادیو ایزوتوپ، آنالیز فعال سازی نوترونی، الکتروشیمیایی، تطابق لبه ای، فلئوئید فیلتراسیون، ریزنشست باکتری، نفوذ بزاق، فیلتراسیون گلوکز و روش نفوذ پروتئین (13-11)، که هر کدام مزایا و معایبی دارند. در مطالعه حاضر از روش نفوذ پروتئین BSA به دلیل مزایای آن استفاده شده است. از جمله مزایای این روش، کمی بودن آن است؛ به طوری که غلظت پروتئین نشت کرده به طور دقیق با واحد $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ مشخص می شود. از آنجایی که اندازه ذرات پروتئین کوچک تر از اندازه باکتری می باشد، لذا گاهی اوقات ممکن است ریزنشست باکتری متوقف شود، در صورتی که در همین شرایط، ریزنشست پروتئین همچنان می تواند ادامه یابد. از طرفی با این که اندازه ذرات رنگ، کوچک تر از اندازه پروتئین BSA می باشد، اما ارزیابی مطالعات نفوذ رنگ نشان داده است که نشت رنگ تنها در یک سطح اتفاق می افتد، در حالی که تکنیک نفوذ پروتئین

در سال 2007 (24)، Zhao و همکاران در سال 2007 (17) و Al-Hadlaq و همکاران در سال 2005 (16) و مشابه مطالعه حاضر (بدون در نظر گرفتن کن‌های فرعی مانند مطالعات فوق) میان ریزش مسترکن‌های 2 درصد با 6 درصد تفاوت معنی‌داری وجود ندارد.

«ساعتچی» و همکاران در سال 2007 به مقایسه میزان ریزش آپیکالی در دندان‌های تک کانال آبچوره شده با مسترکن‌های 2 و 4 درصد به روش تراکم جانبی پرداختند (14) و مشابه مطالعه ما ریزش گروه مسترکن 4 درصد نسبت به 2 درصد به‌طور معنی‌دار بیش‌تر بود، البته در مطالعه حاضر در صورت استفاده از کن فرعی 4 درصد اختلاف معنی‌دار نبود، البته از آن‌جا که این مطالعه برای اولین بار انجام شده مطالعه‌ای جهت مقایسه وجود ندارد. از سوی دیگر، «بیدار» و همکاران در سال 2010، در مقایسه میزان ریزش کانال آبچوره شده با مسترکن 2 و 4 درصد و فرعی 2 درصد به روش تراکم جانبی (19) و Romania و Schafer نیز در سال‌های 2008 و 2012 در مطالعاتی مشابه، جهت مقایسه حجم اشغال شده با گوتاپرکا در کانال‌های آبچوره شده به روش تراکم جانبی با مسترکن‌های 2 و 4 درصد و فرعی 2 درصد (26، 27) برخلاف مطالعه ما تفاوت معنی‌دار بین مسترکن‌های 2 و 4 درصد پیدا نکردند. در این مطالعات نیز برخلاف مطالعه حاضر تنها از کن فرعی 2 درصد استفاده شد.

در مطالعه Skini و همکاران در سال 2016، تطابق لب‌های آبچوریشن با مسترکن‌های 2، 4 و 6 درصد به همراه کن فرعی 20-2 درصد با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مورد سنجش و مقایسه قرار گرفت. طبق نتایج این مطالعه، در بین این سه گروه، مسترکن 2 درصد تطابق بهتری داشت (28).

نتیجه مطالعه حاضر نیز با ماحصل مطالعه Skini همسو بود؛ بدین ترتیب که در مقایسه سه تایی ریزش پروتئین مسترکن‌های 2، 4 و 6 درصد به همراه کن‌های فرعی 2 درصد (مانند مطالعه Skini)، مسترکن 2 درصد

قادر به برآورد ریزش انتهای ریشه در همه ابعاد آن است که این حالت به‌خوبی شرایط کلینیکی را شبیه‌سازی می‌کند. این روش به دلیل ارتباط کلینیکی مناسب و تخریبی نبودن آن که ارزیابی مکرر ریزش را در صورت نیاز ممکن می‌سازد و نیز به دلیل شباهتی که بین مولکول لیپو پلی ساکارید باکتریال و BSA از لحاظ اندازه وجود دارد، در مقایسه با سایر روش‌های ارزیابی ریزش، اهمیتی روز افزون یافته است (13، 20). جهت سنجش غلظت پروتئین BSA نشسته نیز از روش اسپکتروفتومتریک بردفورد استفاده شد که نسبت به سایر روش‌های اندازه‌گیری پروتئین، سریع‌تر و آسان‌تر بوده و قابل تکرار است. اندازه‌گیری در دمای اتاق انجام گرفته و وسیله خاصی مورد نیاز نمی‌باشد. پس از افزودن نمونه به لوله‌های حاوی معرف‌ها و ایجاد رنگ آبی مربوطه، پس از زمان کوتاهی انکوباسیون در دمای اتاق، در طول موج 595 نانومتر، نتایج خوانده می‌شوند (21).

در هیچ یک از مطالعات با موضوع تأثیر درجه تقارب گوتاپرکا بر روی ریزش آپیکال، از روش نفوذ پروتئین استفاده نشده است. در سایر پژوهش‌های مبتنی بر سنجش ریزش که در زمینه علوم ترمیمی و اندودنتیکس با تکنیک نفوذ پروتئین انجام شده، دوره‌های زمانی متفاوتی در نظر گرفته شده است. Park و همکاران بازه زمانی سه روز (20)، «شاهی» و «شاکویی» 60 روز (22، 23) و «زارع نژاد» و همکاران مدت 30 روز (13) را برای مطالعات خود انتخاب نمودند. با توجه به این که انتخاب دوره زمانی طولانی‌تر، احتمالاً بر دقت مطالعه تأثیر مساعد می‌گذارد، در مطالعه حاضر مدت زمان نهایی 60 روز برای بررسی میزان ریزش نمونه‌ها در نظر گرفته شد. به علاوه در روزهای 15 و 30 نیز میزان ریزش نمونه‌ها مورد سنجش قرار گرفت.

در مقایسه کن‌های 2 و 6 درصد، تقریباً تمام نتایج حاصل از مطالعات مختلف حاکی از عدم وجود تفاوت معنی‌دار بوده است. به طوری که در مطالعات Bal و همکاران در سال 2001 (15)، Pérez Heredia و همکاران

جهت سنجش ریزنشست، طول مدت مطالعه و حتی تفاوت مهارت عمل کننده در انجام تکنیک تراکم جانبی حاصل شده باشد. همچنین باید توجه داشت که ملاحظات بسیاری از جمله مورفولوژی ریشه، آناتومی کانال و مواد مورد استفاده برای پرکردن کانال و ... هم بر میزان ریزنشست در درمان های اندودنتیک اثرگذار هستند که می توانند نتایج مطالعات بررسی ریزنشست را تحت الشعاع قرار دهند. نحوه برخورد با داده های به دست آمده در آنالیز آن ها و استفاده از آزمون های آماری گوناگون به منظور تحلیل نتایج نیز می تواند به عنوان یکی از علل احتمالی تناقضات موجود مطرح شود. در چارچوب مطالعه حاضر، استفاده از مسترکن 2 درصد به همراه کن فرعی 2 درصد کم ترین میزان بروز ریزنشست را در پی دارد. با این وجود، استفاده از مسترکن 6 درصد همراه کن فرعی 4 درصد به دلیل میزان ریزنشست بسیار نزدیک به مسترکن 2 درصد به همراه کن فرعی 2 درصد، کاهش قابل ملاحظه زمان آبجوریشن و نیز کاهش تعداد دفعات وارد شدن نیروی اسپریدر برای تراکم جانبی که کم شدن ریسک شکستگی عمودی ریشه را در پی دارد، می تواند به عنوان جایگزین مناسبی برای مسترکن و کن های فرعی رایج 2 درصد باشد.

سپاسگزاری

این مقاله بر اساس پایان نامه دانشجویی با کد اخلاق IR.MAZUMS.REC.94-1771 با حمایت دانشگاه علوم پزشکی مازندران نوشته شده است.

References

- Jensen AL, Abbott PV, Castro Salgado J. Interim and temporary restoration of teeth during endodontic treatment. Aust Dent J 2007; 52(1 Suppl): S83-S99.
- Fabricius L, Dahlen G, Sundqvist G, Happonen RP, Moller AJ. Influence of residual bacteria on periapical tissue healing

کم ترین مقدار ریزنشست را نشان داد (جدول شماره 1). هرچند در هنگام استفاده از کن فرعی 4 درصد، کم ترین مقدار ریزنشست پروتئین مربوط به مسترکن 6 درصد می باشد (جدول شماره 1).

در سال 2009، Liu و همکاران تاثیر استفاده از مسترکن های با اندازه و تیپر مختلف را بر روی ریزنشست اپیکالی در کانال های انحنادار دندان های خلفی، به روش فیلتراسیون گلوکز بررسی کردند. آن ها بدین منظور، از مسترکن های 2، 4 و 6 درصد (2-25، 4-25، 4-30، 6-20 و 6-25) درصد با تکنیک تراکم جانبی استفاده کردند. در نهایت، تفاوتی بین این مسترکن ها دیده نشد (3).

Nagas و همکاران نیز میزان نشت رنگ را در پرکردگی با مسترکن 2 و 4 درصد به روش تراکم جانبی و سینگل کن 6 درصد بررسی و با هم مقایسه نمودند. طی این مطالعه، ریزنشست هر سه گروه تقریباً برابر ارزیابی شد (18).

استفاده از کن فرعی با تقارب مختلف برای اولین بار در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفته است و مشخص شده است زمانی که از ماسترکن 2 درصد استفاده می شود استفاده از کن فرعی 2 درصد بر 4 درصد ارجحیت دارد اما در استفاده از ماسترکن 6 درصد ارجحیت بر کن فرعی 4 درصد است به طوری که استفاده همزمان آن ها باعث ایجاد ریزنشست کم تر می شود.

به طور کلی تعدد آرا در مورد ریزنشست، ممکن است به دلیل گوناگونی در روش های استفاده شده

- after chemomechanical treatment and root filling of experimentally infected monkey teeth. Eur J Oral Sci 2006; 114(4): 278-285.
- Liu LH, Xie XL, Chen MM, Yin LY, Zhang Y. The effect of different gutta-percha master cones on first penetration depth of spreader and apical microleakage. Shanghai Kou Qiang

- Yi Xue 2009; 18(4): 355-359.
4. Saatchi M, Etesami L. Comparison of Spreader Penetration during Lateral Compaction of 0.04 and 0.02 Tapered Gutta-Percha Master Cones. *Front Dent* 2006; 3(3): 112-116.
 5. Ingle JI, Newton CW, West JD, Gutmann JL, Glickman GN, Korzon BH, Martin H. Obturation of the radicular space. In: Ingle J, Balkland L, editors. *Endodontics*. 5th ed. BC Decker Inc: Elsevier; 2002. p. 578-580.
 6. Wu MK, Kast'akova A, Wesselink PR. Quality of cold and warm gutta-percha fillings in oval canals in mandibular premolars. *Int Endod J* 2001; 34(6): 485-491.
 7. Hugh CL, Walton RE, Facer SR. Evaluation of intracanal sealer distribution with 5 different obturation techniques. *Quintessence Int* 2005; 36(9): 721-729.
 8. Ho ES, Chang JW, Cheung GS. Quality of root canal fillings using three gutta-percha obturation techniques. *Restor Dent Endod* 2016; 41(1): 22-28.
 9. Gound TG, Riehm RJ, Makkawy HA, Odgaard EC. A description of an alternative method of lateral condensation and a comparison of the ability to obturate canals using mechanical or traditional lateral condensation. *J Endod* 2000; 26(12): 756-759.
 10. Blum JY, Machtou P, Micallef JP. Analysis of forces developed during obturations. Wedging effect: Part I. *J Endod* 1998; 24(4): 217-222.
 11. Mulyar S, Shameem KA, Thankachan RP, Francis PG, Jayapalan CS, Hafiz KA. Microleakage in endodontics *J Int Oral Health* 2014; 6(6): 99-104.
 12. Verissimo DM, do Vale MS. Methodologies for assessment of apical and coronal leakage of endodontic filling materials: a critical review. *J Oral Sci* 2006; 48(3): 93-98.
 13. Zarenejad N, Asgary S, Ramazani N, Haghshenas MR, Rafiei A, Ramazani M. Coronal microleakage of three different dental biomaterials as intra-orifice barrier during nonvital bleaching. *Dent Res J (Isfahan)* 2015; 12(6): 581-588.
 14. Saatchi M, Etesami L. Comparison of apical microleakage in lateral condensation method, using 0.02 or 0.04 tapered gutta-percha master cones-an in vitro study. *JDM* 2007; 20(2): 108-112.
 15. Bal AS, Hicks ML, Barnett F. Comparison of laterally condensed .06 and .02 tapered Gutta-Percha and sealer in vitro. *J Endod* 2001; 27(12): 786-788.
 16. Al-Hadlaq SM, Al-Rabiah AA. In vitro evaluation of three techniques to obturate 0.06 taper canal preparations. *Aust Endod J* 2005; 31(2): 63-65.
 17. Zhao XY, Wang SM, Zhang CF. Quality of apical seal of differently tapered gutta-percha cone using warm vertical condensation technique. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi* 2007; 25(6): 548-550.
 18. Nagas E, Altundasar E, Serper A. The effect of master point taper on bond strength and apical sealing ability of different root canal sealers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 107(1): e61-64.
 19. Bidar M, Sadeghi G, Gharechahi M, Mortazavi M, Forghani M. In vitro comparison of apical leakage in root canals obturated with 0.04 and 0.02 tapered gutta-percha. *Iran Endod J* 2010; 5(3): 97-100.
 20. Park J-H, Kang S-B, Choi Y-H, Bae J-H. Sealing Ability of Three Different Materials Used as Retrograde Filling. *J Korean Den Sci* 2012; 5(2): 60-67.
 21. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities

- of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72: 248-254.
22. Shahi S, Rahimi S, Hasan M, Shiezadeh V, Abdolrahimi M. Sealing ability of mineral trioxide aggregate and Portland cement for furcal perforation repair: a protein leakage study. *J Oral Sci* 2009; 51(4): 601-606.
 23. Shakouie S, Samiei M, Shahi S, Rahimi S, Yavari A, Reyhani MF, et al. Sealing ability comparison of mineral trioxide aggregate in root end cavities prepared with ultrasonic and Er, Cr: YSGG laser. *Afr J Biotechnol* 2012; 11(36): 8906-8911.
 24. Pérez Heredia M, Clavero González J, Ferrer Luque CM, González Rodríguez MP. Apical seal comparison of low-temperature thermoplasticized gutta-percha technique and lateral condensation with two different master cones. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2007; 12(2): 175-179.
 25. Gordon MP, Love RM, Chandler NP. An evaluation of .06 tapered gutta-percha cones for filling of .06 taper prepared curved root canals. *Int Endod J* 2005; 38(2): 87-96.
 26. Romania C, Beltes P, Boutsioukis C, Dandakis C. Ex-vivo area-metric analysis of root canal obturation using gutta-percha cones of different taper. *Int Endod J* 2009; 42(6): 491-498.
 27. Schafer E, Nelius B, Burklein S. A comparative evaluation of gutta-percha filled areas in curved root canals obturated with different techniques. *Clin Oral Investig* 2012; 16(1): 225-230.
 28. Skini M, Yazdizadeh M, Dabbagh M, Jafarzadeh M, Shamohammadi M, Saabet Y. The evaluation of marginal adaptation of obturation with different taper gutta percha. *Int J Curr Res Chem Pharm Sci* 2016; 3(3): 61-65.