

РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА
УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ“
СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ - СКОПЈЕ
КЛИНИКА ЗА БОЛЕСТИ НА ЗАБИТЕ И ЕНДОДОНТОТ

Василка Ренцова

**ПРОЦЕНКА НА КАРИОСТАТСКИОТ
ПОТЕНЦИЈАЛ И БИОКОМПАТИБИЛНОСТА НА
МАТЕРИЈАЛИ КОИ СЕ КОРИСТАТ ВО
РЕСТАВРАТИВНАТА СТОМАТОЛОГИЈА**

-докторска дисертација-

Скопје 2011 година

УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ“
СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ
КЛИНИКА ЗА БОЛЕСТИ НА ЗАБИТЕ И ЕНДОДОНТОТ

Василка Ренцова

**ПРОЦЕНКА НА КАРИОСТАТСКИОТ
ПОТЕНЦИЈАЛ И БИОКОМПАТИБИЛНОСТА НА
МАТЕРИЈАЛИ КОИ СЕ КОРИСТАТ ВО
РЕСТАВРАТИВНАТА СТОМАТОЛОГИЈА**

-докторска дисертација-

Ментор: Проф. Др Славјанка Оцаклиевска

ПРОЦЕНКА НА КАРИОСТАТСКИОТ ПОТЕНЦИЈАЛ И БИОКОМПАТИБИЛНОСТА НА МАТЕРИЈАЛИ КОИ СЕ КОРИСТАТ ВО РЕСТАВРАТИВНАТА СТОМАТОЛОГИЈА

Базирано на принципите на конзервативната стоматологија, вниманието на стоматолозите е фокусирано на примената на минимална инвазивна метода во третманот на кариозниот процес, со минимално отстранување на забна супстанца, понекогаш со обид да се реминерализира декалцифицираниот дентин и емајл. Оттука произлегува и потребата од изнаоѓање на материјал кој ќе обезбеди добро рабно затворање, ќе поседува антибактериски, реминерализационен ефект, а нема да делува штетно на пулпното ткиво. Поаѓајќи од овие сознанија цел на оваа докторска дисертација е да го процениме влијанието на различни материјали за реставрација врз пулпното ткиво, врз тврдите забни ткива, но и нивниот ефект врз поедини кариогени бактерии како најзначајни во етиологијата на кариозното заболување.

Посебни цели кои ќе бидат предмет на испитување во оваа теза се:

- Да ја одредиме концентрацијата на флуорот во дентин по апликација на различни флуор ослободувачки материјали и во присуство на раствор за рекалцинација.
- Да го одредиме влијанието на јоните на флуор ослободени од реставративните материјали на инкорпорирањето на калциум во деминерализиран дентин во р-р збогатен со јони на калциум и фосфати.
- Да го испитаме антибактерискиот ефект на денталните материјали аплицирани директно на култури од кариогени бактерии и индиректно преку дентин.
- Хистопатолошки да го евалуираме одговорот на пулпното ткиво на испитуваните материјали седум и триесет дена по нивната апликација.

Во функција на реализација на поставените задачи во првиот дел од испитувањето ја одредувавме количината на флуор и калциум во дентин. Испитувањето го правевме на 80 екстрахирани трети молари, кај кои

испрепариравме кавитети прва класа. За декалцинација на дентинот на вака подготвените кавитети користевме 150 мл, 0,1М млечна киселина со рН 4,6. По декалцинацијата забните коронки ги поделивме во четири еднакви групи од по 20 коронки. Коронките од секоја група ги сепариравме вертикално на половина при што од секоја група добивме две подгрупи А и Б. На половинките од А подгрупите ги аплициравме материјалите кои ги испитувавме (Fiji IX, Fuji Lining LC, G Bond и Prime3&Bond), а половинките од Б подгрупите служеа како контролни примероци. Потоа секоја група испитувани и контролни примероци ги ставивме во стаклен сад со раствор за реминерализација и ги инкубиравме на $t\ 37^{\circ}\text{C}$.

Реакцијата на пулпното ткиво на материјалите користени во оваа студија го испитувавме на 12 Wistar стаорци, по претходно утврдени параметри. За таа цел на четири заби кај секој стаорец со дијамантски борер испрепариравме кавитети со длабочина 1мм. Во 12 кавитети кај 6 стаорци аплициравме Fuji Lining LC, а во другите 12 кавитети аплициравме Fuji IX како подлога. Кај другите стаорци во 12 од испрепарираниите кавитети аплициравме G Bond додека во другите 12 кавитети Prime&Bond. Сите кавитети оклузално ги затворивме со Gradia Flo. Седум дена по апликација на полнењето по три стаорци од секоја група ги жртвувавме, а забите кои беа реставрирани ги извадивме и ги ставивме во средство за декалцинација Остеомол. По вадење на забите од фиксативот вршена е стандардна постапка на изработка на препарати за хистолошка анализа. Хистолошките препарати беа евалуирани со светлосен микроскоп поврзан со видео камера. Триесет дена по апликација на испитуваните материјали ја повторивме постапката и со другите реставрирани заби.

Во третиот дел од истражувањето го испитувавме влијанието на реставративните материјали врз растот на S Mutans при нивна директна апликација на петриеви плочи, по апликација на дентински дискови и индиретното влијание при апликација преку дентински дискови со дебелина од 0,5мм. Влијанието на испитуваните материјали врз растот и развојот на S

Mutans го одредувавме со примена на агар дифузионата метода, со мерење на заоната на инхибиција продуцирана од реставративниот материјал.

Добиените резултати од сите испитувања беа статистички обработени со дескриптивни и аналитички статистички методи.

Инкорпорирање на флуор во дентин за двата периоди на испитување забележавме по апликација на Fuji IX, Fuji Lining LC и Prime&Bond, за разлика од G Bond каде не забележавме инкорпорирање на статистички значајна количина на флуор. Кај сите испитувани материјали за двата периоди на испитување забележавме значително зголемување на количината на калциум во дентин, по апликација на примероците во раствор за реминерализација.

Сите испитувани реставративни материјали делуваат иритативно на пулпата во првите седум дена од апликацијата. Повеќето од забите реставрирани со Fuji IX и Fuji Lining LC покажаа само блага инфламаторна реакција со блага дезорганизација во слојот на одонтобласти за период од 7 дена. Слаба до умерена инфламаторна реакција забележавме кај примероците реставрирани со G Bond, додека Prime&Bond покажа најголем токсичен ефект. За период од триесет дена кај ниеден од испитуваните примероци не забележавме присуство на воспалителни промени на пулпата што сугерира дека промените на пулпното ткиво предизвикани со апликација на реставративните материјали се реверзибилни.

Резултатите од микробиолошките испитувања покажуваат дека сите испитувани материјали со исклучок на Prime&Bond покажуваат антимикуробно влијание врз растот на S Mutans аплицирани директно на инокулирани петриеви плочи, додека ниеден од испитуваните материјали не покажува инхибиторна активност кон растот на S Mutans аплицирани индиректно преку дентински дискови со дебелина од 0,5мм.

Клучни зборови: флуор, инкорпорирање, калциум, реминерализација, глас јономер цемента, дентин ахезиви, пулпина реакција, одговор на пулпата, биокомпатибилност, антимикуробен ефект, S Mutans.

EVALUATION OF CARIOSTATIC POTENTIAL AND BIOCOMPATIBILITY OF THE MATERIALS USED IN RESTORATIVE DENTISTRY

Based on the principles of conservative dentistry, the dentists are focused on minimal invasive method in the treatment of cariogen process considering the minimal loss of hard dental tissue. Therefore, the attention of scientists is focused on finding a material that would provide well marginal adaptation that would possess antibacterial, remineralisation effect and at the same time wouldn't harm the pulp tissue. With all considered, the aim of this research, is not only to determine the influence of different restorative materials on the dentin tissues, but also the effect they cause on several cariogenic bacteria.

The goal of the work of this work is:

- To determine the concentration of F and Ca in dentin tissue after applying different fluor-releasing materials in the presence of remineralisation solution for a period of 3 and 10 weeks.
- To research the antibacterial effect of dental materials applied directly and indirectly.
- To evaluate histopatologically the pulp tissue response of the researched materials, 7 and 30 days after their application.

The first part of the research is to determinate the quantity of dentin F and Ca. The research was conducted on 80 extracted third molars in which we made first class cavity. For decalcination of dentin, we used 150 ml, 0,1M lactic acid њИТХ pH 4, 6. After that, we split the teeth in 4 equal groups consisted of 20 teeth. They were separated vertically in two halves with 2 subgroups A and B. On the A subgroups we applied the researched materials (Fuji IX, Fuji Lining LC, G Bond and Prime3&Bond), and the B subgroups were used as control samples. Later, each group was settled in glass container together with remineraliation solution on temperature of 37 C in a period of 3 and 10 weeks. The incorporated fluoride and calcium concentration has been determined by significant increase of spectrometer Perkin Elmer 50.

The reaction of pulp tissue has been examined on 12 Wistar rats, after the previously set parameters. For that purpose under copious water-cooling, 48 class V cavities (four

cavities in each rat) with 1mm depth were prepared with a high-speed handpiece using a diamond bur. The cavities were divided in four groups. In the cavities from the first group we applied Fuji Lining LC, and in the second group cavities we applied Fuji IX as a base. In the third and fourth group cavities we applied Prime&Bond and G Bond as a base. All the cavities were restored with Gradia Flo. Seven days after the application, 3 rats from each group were killed and the restored teeth were extracted and immersed in a fixative solution—Osteomol. After removing the Osteomol, the specimens were processed to histological procedures. The histological evaluation was made with light microscope connected with a video camera. Thirty days after the application of dental materials we redid the procedure with the other restored teeth.

In the third part of the research we examined the influence of restorative materials on the S mutans progress during their direct application and indirectly to dentins discs with thickness of 0,5 mm. The influence of the examined materials was determined by using agar diffusion method.

The incorporation of F was noticed after applying Fuji IX, Fuji Lining LC and Prime Bond, in contrary with the G Bond where there was no incorporation at all. During the two periods there was a significant enlarging of the amount of Ca in dentin for all materials.

For Fuji Lining LC and Fuji IX most of specimens exhibited no pulpal response or slight inflammatory reaction associated with slight tissue disorganization during a seven day period. Slight to moderate inflammatory pulpal response occurred in the specimens restored with G Bond, while Prime&Bond exhibited the strongest toxic effect on the pulp tissue. After 30 days in all groups, the pulp tissue recovered and displayed a normal appearance.

The results have shown that all of the examined materials with exception of Prime&Bond, that were applicated directly, have antibacterial influence on the growth of S Mutans. None of the tested materials applicated indirectly showed antibacterial effect on the growth of S Mutans.

Key words: fluor, Incorporation, Ca, remineralisation, glass ionomer cements, dentin adhesives, pulp reaction, pulp response, biocompatibility, antimicrobial effect, S Mutans.

СОДРЖИНА

Вовед	7
Појдовни литературни информации	11
Цел и предмет на испитувањето	31
Материјал и метод на работа	34
- одредување на концентрацијата на флуор и калциум во денџин	35
- хистолошки испитувања	38
- микробиолошки испитувања	40
- статистичка обработка на податоци	41
Резултати	43
<i>Резултати добиени од мерењата на концентрацијата на флуор и калциум</i>	44
<i>Корелација на флуор и калциум</i>	73
<i>Резултати од хистолошките испитувања</i>	75
<i>Резултати од микробиолошките испитувања</i>	84
Дискусија	86
Заклучок	112
Библиографија	116

ВОВЕД

ВОВЕД

Денталниот кариес е комплексно заболување, кое зафаќа голем процент од светската популација независно од возраста и полот, а е во тесна врска со социоекономскиот статус на популацијата. Во основа на ова заболување се бактриите (*S mutans*, *S sobrinus* и *Lactobacillus acidophilus*) и нивните продукти. Може да се јави како примарен или пак како секундарен кариес. Оттука превенцијата од појавата на ова заболување, или пак стопирање на понатамошното ширење на кариозниот процес е од особено значење. Централно место во кариес превентивната програма секако имаат флуоридите било преку топикална апликација, било преку нивното ослободување од денталните материјали.^{18,24,85,123,126} За појавата на секундарниот кариес од особено значење е синергистичкиот ефект на новите материјали за obturacija кои се одликуваат со добри физички и механички карактеристики, но и со способност да ослободуваат флуориди во тек на подолг временски период. Присуството на микропукнатина меѓу површината на забот и реставративниот материјал претставува предилекционо место за колонизација на микроорганизми од саливата што понатаму може да резултира во појава на секундарен кариес и инфламација на пулпното ткиво. Друг извор на бактерии е некомплетно отстранување на кариозните маси. Присуството или отсуството на бактерии по отстранување на кариозните маси објективно не може да се детерминира. Кариес маркерите како објективен метод за одредување на присуството на кариозни маси не го рефлектира и статусот на преостанати микроорганизми во дентинот. Оттука се јавува потребата од изнаоѓање на материјал кој покрај добрите физички и механички особини ќе има и бактерициден ефект.

Континуираниот развој на науката и техниката обезбедува широк спектар на нови дентални материјали со докажани механички и физички карактеристики погодни за различни клинички апликации. Инкорпорирањето на флуор во овие дентални материјали претставува еден од начините да се инхибира растот и развојот на микроорганизмите. Глас јономер цементите се реставративни

материјали кои содржат но и ослободуваат флуор во текот на подолг временски период. Во последните години пак актуелни се и композитни материјали кои содржат и ослободуваат флуор. Битно е да се каже дека различни видови на дентални материјали ослободуваат различна количина на флуор и со различен интензитет.

Понатаму, мономерите кои се составен дел од реставративните материјали, преку ниската рН или пак преку адиција на специјални антибактериски групи може да продуцираат антибактериски ефект. Од антибактериските супстанции се очекува да влијаат врз преостанатите микроорганизми како на површината на кавитетот така и во подлабоките слоеви од дентинот.

Реминерализацијата на кариозната лезија на хистолошко ниво е од особено значење бидејќи истовремено се стопира прогресијата на кариозниот процес и се надоместува делумно изгубената забна субстанца. Процесот на реминерализација зависи од присуството на калциумови и фосфатни јони кои може да потекнуваат како од плунката така и од пулпалниот флуид. Јоните на флуор присутни во плунката или ослободени од реставративниот материјал делуваат како катализатор на реакцијата и доведуваат до инкорпорирање на флуор во структурата на хидроксил апатитот (ХАП) и до формирањето на флуор хидроксил апатит (ФХАП) кој се карактеризира со отпорност на деминерализација блиска до отпорноста на флуорапатитот (ФАП). Флуор ослободувачките реставративни материјали аплицирани преку цврст кариозен дентин се смета дека не само што имаат влијание на растот и активноста на преостанатите микроорганизми туку влијаат и на забрзување на процесот на реминерализација на дентинот под реставративното полнење.⁸⁸

Современите реставративни материјали покрај тоа што треба да обезбедат добро рабно затворање, да поседуваат антимикробен ефект и кариостатски потенцијал потребно е да демонстрираат и висока биокомпатибилност кон пулпното, но и кон околните забни ткива.⁷⁵ Конвенционалните глас јономер цемента се карактеризираат со биокомпатибилност, отсуство на контракција при врзување, хемиска атхезија за забната структура и континуирано

ослободување на флуориди. Ограничувањата на глас јономер цементите како реставративни материјали се резултат на слабата отпорност на цвакопритисок, незадоволителната естетика и осетливоста на влага. Композитите пак се естетски посупериорни имаат подобри физички карактеристики но им недостасува способноста да ослободуваат флуориди.²⁸

61,93

Смолесто модифицираните глас јономер цементи или светлосно полимезирачки се глас јономерии кои содржат од 5-7% хидрофилна смола и се врзуваат делумно со ацидобазна реакција, а делумно со светлосно или хемиска полимеризациона реакција. Флуор ослободувачките композити се композити кои содржат флуор, кој може да биде ослободен било преку механизмот на размена на јони, било преку дифузија на флуорот низ смолата. Примената на атхезивната техника на затварање на кавитетите со директна апликација на композитното полнење преку дентинот го иницираше и производството на атхезиви и бондови кои содржат флуор.^{53,61}

**ПОЈДОВНИ
ЛИТЕРАТУРНИ
ИНФОРМАЦИИ**

ПОЛДОВНИ ЛИТЕРАТУРНИ ИНФОРМАЦИИ

Истражувањата говорат дека во последните три декади кариес преваленцата е во опаѓање ширум светот. Сепак од ова заболување се афектирани 50% од децата и дури 95% од адолесцентите. Апликацијата на флуориди било преку пасти за миене заби, водички за испирање или пак преку примена на реставративни материјали кои ослободуваат флуор може да ја спречи атхезијата на бактериски клетки за површината на забот.^{18,24,85,104,125}

ВЛИЈАНИЕТО НА ФЛУОРОТ ВРЗ КАРИОГЕНИТЕ МИКРООРГАНИЗМИ

Прогресијата или стопирањето на кариозниот процес се детерминирани со балансот меѓу протективните и патолошките фактори, а флуоридите се клучниот фактор во стопирање на кариесот.

Контролата врз појавата на денталниот кариес флуоридите ја остваруваат преку повеќе механизми:

- ја инхибираат деминерализацијата на тврдите забни ткива
- го стимулираат процесот на реминерализација
- делуваат инхибиторно на активноста на бактериите во денталниот плак.^{17,29,44,59}

Истражувањата на повеќе автори за биохемискиот ефект на флуорот врз оралните бактерии говорат дека флуоридите концентрирани во денталниот плак го инхибираат процесот со кој кариогените бактерии ги метаболизираат јагленохидратите и продуцираат киселина, а исто така ја афектираат и бактериската продукција на атхезивни полисахариди.^{42,48,82}

Ekenback и соработниците укажуваат на значително намалување на бројот на *S mutans* во денталниот плак по апликација на варниш кој ослободува флуор.²⁹

Li i Bowden го испитувале влијанието на флуорот на атхезијата на *S mutans* и други орални бактерии и нашле дека флуоридите немаат некое значење врз раната фаза на акумулацијата на микроорганизмите.⁷¹

И покрај слабото влијание на почетната атхезија, флуоридите може да ја намалат плак акумулацијата што се должи на инхибиција на растот на микроорганизмите особено при низок рН на плунката.^{59,78}

Marczuk-Kolada сугерира дека количината на ослободен флуор од реставративниот материјал има влијание на неговиот кариостатски потенцијал. Во своето ин витро истражување го испитувале ослободувањето на флуориди и кариостатскиот потенцијал на компомерот Dugast AP и дошле до заклучок дека испитуваниот материјал има најголемо антибактериско делување седмиот ден од апликацијата, кога е забележано и најголемо ослободување на флуориди.⁸¹

Атхезијата на бактерии на површината на реставративниот материјал ќе зависи не само од количината на ослободен флуор туку и од нерамнината на површината на полнењето.⁹⁸

Влијанието на флуорот врз растот и развојот на кариогените микроорганизми е потврдено и во истражувањата на Апостолска С. Резултатите од нивното истражување покажуваат дека и двата испитувани материјали (амалгам и глас јономер цемент), покажуваат антимикрона активности на анаеробните и на аеробните кариогени бактерии. Одделните анализи покажуваат дека после примена на ГЈЦ кај 75% од испитаниците нема присуство на микроорганизми во кавитетот што не е случај при примена на амалгамски реставрации.²

Една од најчестите причини за менување на реставрацијата е појавата на секундарен кариес. Секундарниот кариес е кариес детектиран на ивиците на

постоечката реставрација, а неговата појава ќе зависи пред се од комплетното отстранување на кариозните маси, од доброто рабно затварање, но и од присуството на кариес протективни агенси како што е флуорот.⁶¹

Отпорноста на дентинот кон појава на секундарен кариес кај реставрации со конвенционален и светлосно полимеризирачки глас јономер цемент е докажана од повеќе истражувачи.^{40,48, 114,120,124}

Sis Darendeliler во своето ин витро испитување дошол до заклучок дека глас јономер цементите и компомерите може значително да ја редуцираат појавата на секундарен кариес што не е случај со композитниот материјал. Според истите автори компомерите се помалку ефективни од глас јономер цементите во инхибирање на појавата на секундарен кариес што најверојатно се должи на помалата количина на флуориди што се ослободува од компомерите споредено со глас јономер цементите.¹¹⁴

Dijkman пак испитувајќи ја појавата на секундарен кариес околу светлосно полимеризирачки флуор ослободувачки композити микрорадиографски, докажале редукција на губење на минерална супстанца за 25-56%. Истите автори укажуваат на фактот дека ослободување на флуор од 200-300 $\mu\text{gr}/\text{cm}^2$ во период од еден месец од флуорослободувачки композит комплетно ја инхибира појавата на секундарен кариес во услови на присуство на дентален плак.²¹

Некои истражувања говорат дека појавата на секундарен кариес околу композитните материјали кои содржат флуор како и кај смолесто модифицирани глас јономер цементи е помала во споредба со другите материјали. Кај овие материјали би требало да се очекува синергистички кариостатски ефект како резултат на добрата ретенција на овие материјали за забните структури, но и на нивната способност да ослободуваат флуориди.^{75,124}

Hotta докажал дека реставративните материјали кои ослободуваат поголема количина на флуор имаат поголем кариостатски потенцијал, споредено со реставративните материјали кои ослободуваат помала количина на флуориди.⁵²

MLG Pin и соработниците со своето истражување покажуваат дека ниеден од испитуваните материјали (конвенционален глас јономер цемент, смолестомодифициран ГЈЦ и компомер) не може комплетно да ја спречи деминерализацијата на соседниот емајл. Според ова истражување најдобар кариостатски потенцијал покажал смолесто модифицираниот ГЈЦ, додека конвенционалите ГЈЦ покажале послабо кариостатско делување.⁸⁸

Други истражувачи пак го поддржуваат ставот дека малата количина на флуориди што се ослободува од реставративниот материјал нема ефект на кариогените бактерии, па оттука главната улога на флуоридите би била во процесот на деминерализација и реминерализација.^{20,45,76}

Флуорот ослободен од материјалот за реставрација, како и флуорот присутен во саливата, заедно со калциумовите и фосфатните јони се вградува во деминерализираниот емајл. При тоа се формира кристална емајлова структура која содржи повеќе флуориди, а помалку карбонати и е порезистентна на делувањето на киселини.^{26,28,61}

Hotta покажува дека јоните на флуор ослободени од глас јономерната реставрација може да пенетрираат во дентинот и до 20 μm за период од 30 дена.⁵²

Депозицијата на флуор во дентинот кај различни реставративни материјали е различна и зависи првенствено од количината на флуориди што ја ослободуваат овие материјали.

Испитувањата покажуваат дека количината на ослободени флуориди од конвенционалните глас јономер цемента е значително поголема споредено со смолесто модифицираните ГЈЦ, компомерите и композитните материјали кои содржат флуор.^{4,75} Количината на ослободени јони на флуор е најголема во првите 24 часа, а потоа нагло се намалува.^{4,119}

Според **Asmussen** и **Peutzfeldt** за формирање на водородните јони кои влијаат на ослободување на флуорот од материјалот е неопходна дифузија на вода во самиот материјал.^{3,100}

Конвенционалните глас јономер цемента се поосетливи на вода во споредба со другите материјали што го прави ослободувањето на флуориди полесно. За разлика од нив матриксот на композитните смоли е помалку хидрофилен, што го прави ослободувањето на флуориди потешко.^{28,75}

Најголемиот дел од флуоридите ослободени од естетската реставрација не се инкорпорираат директно во дентинот, туку се ослободуваат прво во оралната празнина, а потоа зависно од рН на средината настанува нивна преципитација на дентинот.^{33,64}

Exterkate во своите ин витро истражувања нашол поголема депозиција на флуориди во дентинот под реставрација со конвенционален ГЈЦ во споредба со реставрација од смолесто модифициран ГЈЦ.³⁰

Дифузијата и вградувањето на ослободениот флуор низ различни делови од забот е различна. Најголем дел од ослободениот флуор се инкорпорира во околниот емајл и дентин, особено во оние делови кои се во непосреден контакт со реставрацијата.^{74,129} **Linlin** и соработниците дошле до сознание

дека по апликација на флуор ослободувачки материјал количината на инкорпориран флуор во дентинот е поголема во споредба со количината инкорпорирана во емајлот. Ова е разбирливо со оглед на присуството на дентинските тубули, поголемата влажност на дентинот и присуството на колагените влакна, но и на самата структура на апатитните кристали кои се помали во споредба со кристалите на хидроксил апатитот кај емајлот.⁷²

Дека флуоридите ја инхибираат деминерализацијата на здравиот емајл, а истовремено го помагаат и процесот на реминерализација на веќе деминерализираниот емајл говорат истражувањата на повеќе автори.^{39,130}

Истражувањата на **J.M. ten Cate** покажуваат дека може да настане реминерализација и на емајлот и на дентинот кај лезија екстендирана во дентин со аплицирање на раствор за реминерализација кој содржи калциумови, фосфорни и јони на флуор. Според истите автори степенот на реминерализација на дентинот за период од 200 дена изнесувал од 60-100% додека пак кај емајлот околу 40%.⁶⁰

Natibovic-Kofman го проучувале реминерализациониот ефект на ГЦЦ на соседниот емајл и дошле до заклучок дека по една недела од апликацијата големината на лезијата се намалува дури за 43% во присуство на артефициелна салива. Редукцијата на лезијата по втората недела од апликацијата изнесувала 14%.⁴⁷

И истражувањата на **Exterkate** покажуваат дека флуорот ослободен од глас јономерната реставрација заедно со калциумовите и фосфатни јони кои дифундираат од пулпалната страна може да резултира во зголемена минерализација на делумно деминерализираниот дентин што е во контакт со реставрацијата.³⁰

Според **Yamamoto** процентот на реминерализација на емајлот е во директна корелација со оддалеченоста од глас јономер реставрацијата. Истите автори

укажуваат и на помало губење на минерална супстанција во оние делови од емајлот што се во непосредна близина на ГЈЦ реставрација.¹²⁸

Зголемена минерализација на дентинот на длабочина од околу 20µm од површината 30 дена по апликација на конвенционален глас јономер цемент е забележана во истражувањата на **Hotta**. Според истите автори зголемена минерализација не се забележува во оние случаи каде е аплициран материјал кој ослободува ниска концентрација на флуориди.⁵²

Според истражувањата на **Tomimaga** реминерализација настанува кај сите испитувани примероци реставрирани со флуор ослободувачки композит и глас јономер цемент. Што се однесува пак до отпорноста на киселина, глас јономер цементот обезбедува помало губење на минерална супстанца од другите материјали.¹²²

Истражувањата на **Kitasko** укажуваат дека стабилноста на инкорпорираниот флуор во деминерализирана дентинска лезија може да биде од големо клиничко значење бидејќи може да влијае на започнување на процесот на реминерализација, во отсуство на кариогени микроорганизми.⁶⁸

Студиите за микропропустливоста упатуваат на фактот дека добрата адхезија на материјалот за обтурација на кавитетот ја редуцира можноста за деминерализација на емајлот и дентинот во ин витро услови преку редуцирање на пенетрацијата на кариогени бактерии и нивни продукти кон забните структури.^{15, 103}

Други ин витро истражувања покажуваат дека флуорот ослободен од ваков реставративен материјал уште повеќе ја намалува можноста од појава на рекурентен кариес.^{22, 23, 66}

Појавата на рекурентен кариес е исто така една од причините за менување на реставрацијата. Отстранувањето на кариозниот дентин е обично субјективно и главно се базира на конзистенцијата и бојата на дентинот.

Според **Kidd** овие едноставни критериуми во голем процент корелираат со микробиолошките наоди. Тој смета дека и дисколорираниот и небоениот дентин содржат мала колочина од микроорганизми што може да се оцени како минимално инфективна.⁶⁷

Сепак овие оптички и тактилни наоди не се соодветниот критериум за оценка на присуство или отсуство на бактерии во кавитетот.

Истражувањата на **Anderson** и **List** укажуваат на тоа дека подлабоките слоеви од кавитетот и покрај контролата со кариес маркери сеуште содржат живи микроорганизми.^{1,73}

Boston и **Graver** даваат хистолошко објаснување дека кариес детекторот не ги елиминира комплетно шансите од преостанати микроорганизми во кавитетот.⁸

Оттука се јавува потребата од аплицирање на реставративен материјал кој ќе има бактерицидно влијание на преостанатите микроорганизми. Примената на материјали кои содржат и ослободуваат флуор аплицирани директно на дентин може да имаат влијание на преостанатите бактерии во дентинските тубули.

Истражувањата на **Duque** за антимикуробниот ефект на два конвенционални и еден светлосно полимеризирачки ГЈЦ, направени со агар дифузионата метода, врз соеви на *S mutans*, *S Sobrinus* и *L Acidophilus* покажуваат дека сите испитувани материјали имаат антимикуробно делување на селектираните кариогени бактерии. Оваа антимикуробна активност најверојатно се должи на иницијалното ослободување на флуориди. Со полимеризацијата се намалува ѝ антимикуробната активност на реставративните материјал.^{7,27}

Антибактериската активност на испитуванот глас јономер цемент и реставративниот материјал Ariston pHc е потврдена во истражувањата на **Boeckh**. Според ова истражување композитот Tetric ceram не покажал значително влијание на растот на бактериите.⁶

Herrera и сор. го испитувале антимикуробниот ефект на повеќе адхезиви и глас јономер цементи. Од своето ин витро истражување овие автори дошле до сознание дека ГЈЦ Vitremer покажува наголема антимикуробна активност споредено со другите ГЈЦ, додека пак Fuji II LC и Ketac-Fil покажале умерено антибактериско делување. Од атхезивните материјали кои биле тестирани, Scotchbond Primer покажал највисок процент на антибактериска активност, додека Prime&Bond, атхезивната компонента на Gluma и компомерот Dyract не покажале инхибиторна активност на испитуваните соеви микроорганизми.⁵⁰

Schmalz го истражувал антибактерискиот ефект на Prime & bond NT и Prime & Bond без флуор и нашле дека првиот атхезив продуцира зона на инхибиција за *S sobrinus* за разлика од вториот каде зоната на инхибиција ја нема. Со оглед на тоа што двата атхезива се разликуваат во својот состав единствено по присуството на флуор, може да се каже дека токму флуорот е причина за антибактерискиот ефект на Prime & Bond NT.¹¹⁰

Покрај флуоридите се почесто се споменуваат и атхезиви кои не содржат флуор, а поседуваат антибактериски ефект. Според **Imazato** самите мономери преку нискиот pH или пак преку адиција на антибактериски групи може да продуцираат антибактериски ефект. Некои од комерцијалните self etching прајмери имаат pH вредности доволно ниски да го растворот денгалниот супстрат и да ги уништат или инактивираат преостанатите микроорганизми. По аплицирањето како се импрегнира во подлабоките слоеви од дентинот прајмерот се раствора, а со тоа неговиот антибактериски ефект се намалува.^{55,56}

Истите автори укажуваат на бактериска инхибиција како резултат на дифузија на антибактериски компоненти од прајмерот.

Различни супстанции имаат различно влијание на одредени кариогени микроорганизми. BisGMA нема влијание на растот на *S. Sobrinus* додека пак пролиферацијата на *L. acidophilus* е значително инхибирана. EGDMA и TEGDMA ја поддржуваат пролиферацијата на *S. sobrinus* и *L. acidophilus*.¹¹⁰

Антимикробна активност е забележана и кај прајмери кои содржат малеинска киселина или глутаралдехид. Испитувањата покажале дека полимеризирачкиот дентин адхезив Syntac TM кој содржи glutaraldehyd покажува јак антибактериски ефект, меѓутоа не е тестиран антимикробниот ефект на овој адхезив во полимеризирана состојба. Други прајмери и повеќето бондинг агенци во суштина не покажуваат билокаков антимикробен ефект.⁵

Кај двокомпонентните (primer&bonding) self-etching системи бондинг агенсите покажуваат значително помал степен на антибактериска активност компарирано со нивните сопствени прајмери, покажуваат испитувањата на **Cehreli Z.**¹⁶

Според **Geurtsen**, повеќето дентин адхезиви покажуваат антимикробен ефект само во иницијалната фаза по апликацијата, додека со полимеризацијата се губи нивниот антимикробен ефект.³⁷

БИОКОМПАТИБИЛНОСТ НА РЕСТАВРАТИВНИТЕ МАТЕРИЈАЛИ

Континуираниот развој на науката и техниката води кон производство на широк спектар на нови дентални материјали со докажани физички и механички карактеристики за различни клинички апликации. Покрај антимикробниот ефект и идеалните механички можности од реставративниот

материјал се бара да поседува и биокompatибилност како према околните, така и према пулпното ткиво.

Пулпното ткиво претставува добро организиран имун систем адаптиран на анатомските услови во кои се наоѓа.

Според истражувањата на повеќе автори постојат две причини за појавата на инфламација на пулпното ткиво по реставративните процедури, а тоа се токсичноста на материјалот и бактериската инфекција.

Повеќе автори ја забележале корелацијата помеѓу иритација на пулпата и присуството на микроорганизми, кога не е забележно токсично делување на материјалот. Според Murray појавата на инфламаторна реакција на пулпното ткиво е во директна корелација со бактерискиот микропроток. Истите автори во своето *in vivo* истражување дошле до сознание дека при примена на total etching техника се јавува појака инфламаторна реакција на пулпното ткиво, а во некои случаи и некроза. Зголемениот инфламаторен одговор на пулпното ткиво е резултат на зголемениот проток на микроорганизми према пулпата. Инфламација и некроза на пулпата не била забележана кај кавитетите каде не е применета техниката на total etching и покрај високиот степен на бактериска контаминација.^{90,91,92}

Од друга страна пак инфламација на пулпното ткиво може да се забележи и кога нема бактериски микропроток, особено кога се аплицираат бондинг системи со ниска вискозност на дентин претходно кондициониран со киселина. Полимерот како што знаеме се формира со полимеризација на мономерите како BisGMA, UDMA, TEGDMA помеѓу останатите. Мономерите обично се хидрофобни, но може и да се лесно растворливи во вода.¹⁰⁰

Повеќе *in vitro* истражувања покажуваат дека одредени компоненти кои се составен дел на денталните материјали може да предизвикаат хемиско оштетување на култури на клетки дури и при ниски концентрации.^{43,62,94,131}

Ratanasathien го испитувал ефектот на симултана експозиција на клетки на неколку композитни смоли. Резултатите од неговите истражувања покажуваат дополнителен цитотоксичен ефект продуциран од НЕМА кога се користи како растворувач за BisGMA.¹⁰² НЕМА може да дифундира релативно брзо низ дентинот кога е во поголема концентрација и да предизвика цитотоксичен ефект.⁹

Истражувањата на **Bouillaget** покажуваат дека Prime&Bond со и без флуор покажуваат цитотоксичен ефект аплицирани директно на култури на клетки во раната фаза по апликацијата, додека цитотоксициот ефект на материјалот седум дена од апликацијата значително се намалува. Ова најверојатно се должи на поголемото иницијално ослободување на мономери во влажна средина, што ги прави овие материјали цитотоксични во раната фаза по апликацијата, а помалку токсични во подоцнежната фаза. Послабо цитотоксично делување е забележано при примената на СМГЈЦ без примена на прајмер.¹⁰

Olive и соработниците во своите истражувања на култура од клетки кај четири од петте испитувани глас јономер цементи, нашле адхерирани витални клетки на површината на материјалот што говори во прлог на нивната биокompatibilност.⁹⁶ Истражувањата говорат дека смолесто модифицираните глас јономер цементи покажуваат појак цитотоксичен, споредено со конвенционалните глас јономер цементи.^{69,70}

Компарирајќи ја цитотоксичноста на четири конвенционални и два смолесто модифицирани глас јономер цементи на гингивални фибробласти **Consiglio** и сор.дошле до заклучок дека и смолесто модифицираните и конвенционалните глас јономер цементи делуваат супресивно на синтезата на протеини кај гингивалните фибробласти.¹⁹

Kan K.C. го испитувал влијанието на флуорот врз токсичниот ефект на конвенционален и смолестомодифициран ГЈЦ и дошол до заклучок дека не постои корелација помеѓу количината на ослободен флуор и токсичноста на материјалот.⁶⁵

Quinlan и сор. во своето ин витро истражување дошле до заклучок дека и испитуваниот композит и компомерот имаат цитотоксичен ефект кога се аплицираат директно на култура од клетки. Според истите автори цитотоксичниот ефект е помал кога реставративниот материјал се аплицира преку дентин со дебелина од 70 микрони. Несоодветната полимеризација исто така влијае на зголемување на токсичноста на материјалите.¹⁰¹

Дека дентинот делува како бариера која го спречува продорот на токсични мономерни према пулпата говорат и резултатите добиени од истражувањата на **Schmalz**. Врз основа на овие резултати може да се заклучи дека ниеден од испитуваните дентин бондинг агенци (All-bond 2, Prime& Bond NT, Syntac Single) со нозок pH не покажале цитотоксичен ефект на култури од пулпини клетки кога се аплицираат преку дентинска бариера со дебелина од 0,5 мм.¹¹⁰

Huang и **Chang** исто така сметаат дека дентин бондинг агенсите се цитотоксични за хуманите пулпини клетки, аплицирани директно. Сепак резултатите од ин витро истражувањата не кореспондираат секогаш со резултатите добиени во ин vivo услови. Во ин vivo услови дентинот до одреден степен би можел да делува како бариера и покрај тоа што е тешко да се одреди количината на излачени супстанции која би била токсична за клетките на пулпата. Понатаму пулпната циркулација ин vivo на некој начин врши испирање и ја намалува концентрацијата на цитотоксични агенци.⁵⁴

Според **Luiz Carlos Santiago** токсичноста на материјалот е директно поврзана со пермеабилноста на дентинот и варира зависно со локализацијата,

длабочината, староста, вмето на експозиција како и од термичката стимулација која е секогаш присутна при препарација на кавитетот.⁷⁷

Дентинот е минерализирано ткиво кое е составено од колагени фибрили аранжирани во мрежа, кои формираат матрикс за кристалите на хидроксилапатитот. Дентинските тубули кои се простираат од емејлово дентинска граница и конвергираат према пулпата и нивниот дијаметар кој се зголемува како се оди према пулпата, се на некој начин одговорни за зголемената пермеабилност на дентинот во близина на пулпата.^{11,83}

Дентинската пермеабилност овозможува придвижување на течностите од пулпата према надвор како и дифузија на хемиски и бактериски продукти према пулпата, што може да предизвика реакција на пулпното ткиво. Дентинот исто така делува и како растворувач на дифундираните субстанции. Денеска со сигурност се знае од истражувањата дека придвижувањето на течностите во спротивен правец од пулпата не може комплетно да ја компензира дифузијата на хемиските и бактериски продукти према пулпата, па оттука дебелината на дентинот меѓу препарираниот површина и пулпата е одлучувачки фактор за продор на овие агенси.⁹⁷

Редукцијата на преостанатиот дентин, доведува до зголемена пермеабилност на дентинот поради поголемиот број и широчина на експонирани дентински тубули. Luiz C Santiago и сор. во своето *in vivo* истражување дошле до сознание дека смолесто модифицираните матријали покажуваат иста компатибилност со пулпното ткиво како и Ca OH₂ аплицирани на дентин со дебелина од 1,5мм. Според истите автори ова е минималната дебелина на дентинот која може да ја заштити пулпата од штетното влијание на реставративните материјали.⁷⁷

Според **Harold S.** повеќето од реставративните материјали предизвикуваат ирверзибилни оштетувања на пулпата кога дебелината на преостанатиот дентин е помала од 1мм.⁴⁶

Carlos Sousa Costa и сор. пак дошле до заклучок дека дебелина на преостанат дентин од 0,5 мм би требало да биде доволна за да обезбеди заштита на пулпното ткиво од цитотоксичниот ефект на денталните материјали.^{13,14}

Turner покажал дека постои функционална бариера помеѓу одонтбластите кои го превенираат протокот на макромолекули од пулпата во предентинот и дентинот. Оваа функционална бариера може да биде пропустлива за време на препарација на кавитетот.¹²⁷

Покрај дебелината на преостанатиот дентин и техниката на апликација на адхезивниот систем влијае на јачината на реакцијата на пулпното ткиво.

Истражувањата на **Carlos Sousa Costa** говорат дека и кај многу длабоки кавитети со дебелина на преостанат дентин од 162µm по аплицирање на бондинг системи кога не е применета total etching техника на нагрзување се забележува само слаб инфламаторен одговор со присуство на блага дезорганизација на пулпното ткиво. Повеќе истражувања говорат дека со отстранување на размачканиот слој при примена на total etching техниката и аплицирање на бондинг агент се забележува значителен инфламаторен одговор и дезорганизација на околното пулно ткиво.^{14,105}

Повеќе in vivo студии говорат дека покрај денталните материјали и нивните кимпоненти, микропротокот игра важна улога за појавата на инфламаторна реакција на пулпното ткиво. Отука произлегува дека одговорот на пулно дентинскиот комплекс не зависи само од реставративниот материјал што се користи како лајнер или за прекривање на пулпата, туку од способноста на реставративниот материјал да го превенире микропротокот.

Пулпитис или некроза на пулпата се јавуваат пред се поради продорот на микроорганизми преку микропукнатина формирана при полимеризација на композитот, но и како резултат на хемиското дејство на одредени неполимеризирани мономерии ослободени од композитот.^{5,91}

Murray и соработниците го испитувале влијанието на различни материјали за реставрација на појавата на микропроток, формирање на терциерен дентин и појава на инфламаторна реакција на пулпното ткиво кај 270 интактни заби, кај 135 пациенти. Во своето ин vivo истражување забележале појава на бактериски микропроток пропратен со јака инфламаторна реакција на пулпното ткиво поврзана со композитните реставрации, додека пак кај реставрациите со смолестомодифициран глас јономер цемент оваа појава не била забележана. Со цел да се обезбеди подобра адхезија на современите реставративни материјали потребно е делумно или комплетно отстранување на размачканиот слој од дентинската површина.⁹⁰

Примената на total etching техника за нагризување на емајлот и дентинот вовеле револуција во реставративната стоматологија обезбедувајќи солидна врска помеѓу реставрацијата и забните структури.¹¹⁶

Сепак битно е да се каже дека со total etching техниката не се отстранува само размачканиот слој и дентинските чепови туку истовремено се зголемува и дентинската пермеабилност, што може да предизвика колапс и алтерација на преостанатата колагена мрежа и продор како на хемиски супстанции така и на микроорганизми према пулпата.^{11,97} Затоа доброто запечатување на дентинот со адхезив бондинг системи претставува превенција на пулподентинскиот комплекс од бактериска иритација.⁶⁸

Полимерот како што знаеме се формира со полимеризација на мономерии како BisGMA, UDMA, TEGDMA помеѓу останатите. Мономерите обично се хидрофобни но може да се лесно растворливи во вода.

Еден од факторите кој може да предизвика воспалителни промени на пулпното ткиво е дифузијата на одредени неполимеризирани компоненти од реставративниот материјал низ дентинските тубули према пулпата.^{13,14,46}

Дентинските бондинг агенси најчесто содржат мономери слични на оние на композитот, но скоро сите содржат НЕМА.¹¹⁷

Некои студии покажуваат дека НЕМА може да дифундира релативно брзо низ дентинот кога е во поголема концентрација и да предизвика цитотоксичен ефект.¹⁰

Според Ruggenberg кај бондинг агенсите постои и ризик од некомплетна полимеризација, а кислород инхибиција на полимеризацијата е значаен фактор.¹¹⁶ Теоретски 100% конверзија на мономер во полимер е возможна, но во повеќето случаи од 25-50% од метакрилатниот мономер, двојноврзувачки, најчесто останува слободен во полимерот.^{5,62} Кај секој неполимеризиран мономер во композитот постои можност за дифузија према пулпата.⁵³

Покрај добрата адхезија и ослободување на флуориди, едно од својствата кое ги одделува конвенционалните ГЈЦ од другите реставративни материјали е и биокompatibilноста.

Кога глас јономер цементите биле за прв пат воведени како реставративни материјали, одговорот на пулпното ткиво на овие материјали бил карактеризиран како слаб до умерен и помалку иритативен од одговорот на цинк оксидот, силикатниот цемент и композитните смоли.¹²⁸

Компатибилноста на глас јономер цементите со пулпното ткиво се смета дека се должи на фактот што кај овие материјали е избегната примената на појака киселина и токсични мономери. Полиакрилатната киселина е многу послаба од фосфорната, а како полимер има поголема молекуларна тежина што ја ограничува нивната дифузија низ дентинските тубули према пулпата.^{93,118,121}

За разлика од нив повеќе студии говорат за цитотоксичниот ефект на ГЈЦ на пулпното ткиво. Истражувањата на Muller покажуваат дека гласјономер лајнинг цементот предизвикува морфолошки промени во пулпините клетки и ја инхибира адхезијата на клетките за субстратот.⁸⁷

Според **Lan WH** пулпините клетки реагираат различно на различни видови на глас јономер цементи. Нивното истражување говори дека смолесто модифицираните глас јономер цементи покажуваат појак цитотоксичен ефект од конвенционалните ГЈЦ и не се препорачува нивна директна апликација на отворена пулпа. Истите автори укажуваат на значително поголема цитотоксичност на глас јономерите кои содржат супстанции како **HEMA** и **TEGDMA** во својот состав.⁶⁹

Истражувањата на **Mjor** и сор. укажуваат на појава на незначителна реакција на пулпното ткиво по реставрација на кавитети **V** класа со глас јономер цемент. Присуството на дентинска бариера поголема од 0.6 мм која го лимитира директниот контакт на клетките на пулпното ткиво со ГЈЦ реставрација може делумно да го објасната резултатите од ова истражување.⁸⁶

Дека се јавува блага реверзибилна инфламаторна реакција на пулпното ткиво кај сите испитувани ГЈЦ реставрации говорат и истражувањата на **Ghavannasiri**. Резултатите од нивните истражувања исто така покажуваат дека не постои корелација помеѓу присуството на микроорганизми, дебелината на дентинскиот слој и одговорот на пулпата.³⁸

Shimada го испитувал ефектот на флуор ослободувачки адхезивни системи на пулпното ткиво кај мајмуни и забележале единствено блага инфламаторна реакција на пулпното ткиво како иницијална реакција и депозиција на репараторен дентин како касна реакција кај сите испитувани групи. Посериозна инфламаторна реакција како формирање на апсцес или некроза на пулпното ткиво не била забележана кај ниеден од испитуваните случаи.¹¹²

До слични сознанија дошол и **Sonoda** испитувајќи го одговорот на пулпата на различни средства за бондирање.¹¹⁶

За разлика од нив **do Nascimento** наишол на јака инфламаторна реакција и присуство на голема некротична зона во при директно прекривање на пулпата со смолесто модифициран ГЈЦ.²⁵

Биокомпатибилноста на денталните материјали често се поврзува и со нивната способност да ја спречат пенетрацијата на бактерии према пулпата. Кај новите атхезивни системи ова се постигнува со формирање на хибриден слој помеѓу дентинот и реставративниот материјал кој делува како бариера и ја спречува пенетрацијата на бактерии према пулпата.¹⁰⁵

**ЦЕЛ И ПРЕДМЕТ
НА
ИСПИТУВАЊЕТО**

ЦЕЛ И ПРЕДМЕТ НА ИСПИТУВАЊЕТО

Базирано на принципите на конзервативната стоматологија, вниманието на стоматолозите е фокусирано на примената на минимална инвазивна метода во третманот на кариозниот процес, со минимално отстранување на забна супстанца, понекогаш со обид да се реминерализира декалцифицираниот дентин и емајл. Оттука произлегува и потребата од изнаоѓање на материјал кој ќе обезбеди добро рабно затворање, ќе поседува антибактериски, реминерализационен ефект, а нема да делува штетно на пулпното ткиво.

Поаѓајќи од овие сознанија цел на оваа докторска дисертација е да го процениме влијанието на различни материјали за реставрација врз пулпното ткиво, врз тврдите забни ткива, но и нивниот ефект врз поедини кариогени бактерии како најзначајни во етиологијата на кариозното заболување.

Посебни цели кои ќе бидат предмет на испитување во оваа теза се:

- Да ја одредиме концентрацијата на флуорот во дентин по апликација на различни флуор ослободувачки материјали и во присуство на раствор за рекалцинација.
- Да го одредиме влијанието на јоните на флуор ослободени од реставративните материјали на инкорпорирањето на калциум во деминерализиран дентин во р-р збогатен со јони на калциум и фосфати.
- Да го испитаме антибактерискиот ефект на денталните материјали аплицирани директно на култури од кариогени бактерии и индиректно преку дентин.

- Хистопатолошки да го евалуираме одговорот на пулпното ткиво на испитуваните материјали седум и триесет дена по нивната апликација.

**МАТЕРИЈАЛ И
МЕТОД НА РАБОТА**

МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОД НА РАБОТА

ОДРЕДУВАЊЕ НА КОНЦЕНТРАЦИЈАТА НА ФЛУОР И КАЛЦИУМ ВО ДЕНТИН

Концентрацијата на флуорот и калциумот во дентинот ја одредувавме на екстрахирани трети молари, кај кои немаше знаци на појава на кариозна лезија. По екстракцијата од забите ги отстранивме меките ткива и го сепариравме коронарниот од коренскиот дел. Кај сите заби испрепариравме кавитет прва класа, со дно на кавитетот во дентинот.

За декалцинација на дентинот користевме 150 мл, 0,1М млечна киселина со рН 4,6. Претходно испрепарираниите забни коронки ги ставивме во стаклени садови со препарираната површина свртена нагоре, а преку нив аплициравме 8% methylcellulose gel. По 24 часа преку гелот поставивме филтер хартија, а преку неа го аплициравме растворот за декалцинација. Садот го затворивме со стаклен капак и примероците ги инкубиривме на t од 37° C за период од седум дена. По декалцинацијата забните коронки ги поделивме во четири еднакви групи од по 20 коронки. Коронките од секоја група ги сепариравме вертикално на половина при што од секоја група добивме две подгрупи А и Б. На половинките од А подгрупите ги аплициравме материјалите кои ги испитувавме прикажани во табела 1, а половинките од Б подгрупите служеа како контролни примероци.

Кај забите од првата група, А подгрупа на дентинот аплициравме атхезив **Fuji Lining LC** и композитно полнење.

Кај примероците од втората група, А подгрупа на дентинот аплициравме **Fuji IX** и композит.

Кај испитуваните примероци од третата група на заби аплициравме **GC G Bond** во комбинација со композит.

Кај испитуваните примероци од четвртата група на дентинот аплициравме **Prime & Bond NT** и композитно полнење.

Апликацијата на материјалите ја направивме според препораките на производителот.

Табела 1.

Материјал	Фабричко име	Начин на врзување	Производител
Флуор-ослободувачки атхезив	+F Prime & Bond	Светлосно-врзувачки	Dentsply, DeTrey
Атхезив кој не содржи флуор	-F G Bond	Светлосно-врзувачки	GC Corporation
Смолесто модифициран глас јономер лајнер	+F GC Fuji Lining LC	Светлосно-врзувачки	GC Corporation
Конвенционален глас јономер цемент	+F Fuji IX	Самоврзувачки	GC Corporation
Композит	-F Gradia Flo	Светлосно-врзувачки	GC Corporation

Потоа секоја група испитувани и контролни примероци ги ставивме во стаклен сад со раствор за реминерализација и ги инкубиривме на $t\ 37^{\circ}\text{C}$. Растворот за реминерализација кој се подготвува *ex tempore* е составен од: 1,5mmol/l CaCl_2 , 0,9 mmol/l KH_2PO_4 , 130 mmol/l KCl , 0,1ppm NaF и 20mmol/l, HEPES со pH 7,0. По 3 недели од апликацијата во растворот за реминерализација од сите контролни и испитувани групи извадивме по десет

примероци. Кај забите од испитуваните групи го отстранивме испитуваниот материјал и потоа сите заби ги подготвивме за одредување на концентрацијата на флуор и калциум. Реминерализациониот раствор на преостанатите примероци беше обновен. По десет недели од апликација на полнењето на истиот начин како и претходно преостанатите примероци беа подготвени за одредување на концентрацијата на калциум и флуор.

Подготовката на примероците ја направивме на Клиниката за болести на забите и ендодонтот, при Стоматолошкиот факултет во Скопје, а концентрацијата на флуор и калциум се одредуваше спектрофотометриски на Природно математичкиот факултет во Скопје.

ПОДГОТВУВАЊЕ НА МАТЕРИЈАЛОТ ЗА СПЕКТРОФОТОМЕТРИСКО ИСПИТУВАЊЕ НА АТОМСКИ АБСОРБЕР

Половинките од забните киронки се мацерираат до ситно во порцеланско аванче со толчник, а потоа дел од сувиот иситнет материал се мери на аналитичка вага (со точност до четврта децимала).

Точно измерениот материјал се префрла во колба за согорување, се додава 2-3mlH₂O и додатно се обработува со ултразвук.

Во колбата се додава 5ml раствор за согорување: HNO₃; HPCl₃; H₂SO₄ во однос 40:1:2. Согорувањето се врши во дигестор до побелување на претходно жолтиот раствор.

На согорениот материјал се додава неколку милилитри дестилирана вода се помешува и преку инка со филтер хартија се префрла во одмерна колба.

Добиениот раствор во колбата претставува матичен раствор кој потоа се разредува и служи за квантитативна анализа. Концентрацијата на флуор и калциум се анализира спектрофотометриски со мерење на лантан-ализарин комплексите на бранова должина од 600-620nm.

ХИСТОЛОШКИ ИСПИТУВАЊА

Реакцијата на пулпното ткиво на материјалите користени во оваа студија го испитувавме на Wistar стаорци на возраст од 12 недели со тежина од 250-260 грама. Параметри за одредување на реакција на пулпното ткиво беа промени во одонтобластите, постоење на инфламаторна клеточна инфилтрација, формирање на реактивен дентин, како и присуство на микроорганизми во пулпината комора (табела 2).

Испитувањето го направиме на четириесет и осум заби кај дванаесет Wistar стаорци.

На четири заби кај секој стаорец, со дијамантски борер препариравме кавитети со длабочина од 1мм. Големината на кавитетите, т.е. површината од дентинот што беше во контакт со биоматеријалот беше слична кај сите препарации. Стаорците ги поделивме во две групи од по шест стаорци. Во два кавитети кај секој стаорец од едната група аплициравме G Bond, додека на другите два кавитети аплициравме Prime&Bond. Кај другата група на стаорци кај два од испрепарираниите кавитети кај секој стаорец аплициравме Fuji IX, додека на другите два аплициравме GC Fuji Lining LC. Кавитетите на сите групи заби ги затворивме со композит. По седум дена од апликацијата, кај три стаорци од секоја група ги екстрахиравме забите кои беа третирани. Истите веднаш ги ставивме во средство за декалцификација Osteomol (Merk) за период од 48 часа. По вадење на материјалот од средството за декалцификација вршена е стандардна постапка за процесирање и вклопување на забите во парафин. По вклопување на забите во парафин, беа правени пресеци со дебелина од 3-5 μ m кои беа нанесени на предметни стакла и боени со методата Hematoxilin-Eosin.

По 30 дена од апликација на реставративното полнење ги екстрахиравме и преостанатите заби. И овие примероци како и претходните ги декалцифициравме, направивме надолжни пресеци и ги подготвивме за хистолошка анализа. За хистолошка анализа на препаратите користевме светлосен микроскоп поврзан со видео камера (Nikon-Eclipse E 600, програм

Lucia 4,21, Nikon) според претходно утврдени критериуми прикажани на табела 2.

Подготовката на стаорците и забите за анализа ја направивме на Природно математичкиот факултет во Скопје, додека подготовката на хистолошките препарати и нивната анализа беа направени на Катедрата за патолошка анатомија и патохистологија, на Факултетот за ветеринарна медицина во Скопје.

Табела 2. Критериуми за евалуација на промени во пулпата

Промени во слојот на одонтобласти
<i>Нема</i> - не се забележуваат промени во пулпата
<i>Благи</i> - дезорганизација на одонтобласти непосредно под препарацијата
<i>Умерени</i> - дезорганизацијата на одонтобласти зафаќа поголем дел од пулпата
<i>Изразени</i> - некроза на пулпата
Инфламаторна клеточна реакција
<i>Нема</i> - нема присуство на инфламаторни клетки во пулпата
<i>Благи</i> - блага инфламаторна реакција локализирана околу препарацијата
<i>Умерена</i> - воспалителна реакција со умерена лимфоцитарна инфилтрација во коронарниот дел на пулпа
<i>Изразена</i> - изразена инфламаторна реакција со присуство на абцес
Формирање на реактивен дентин
<i>Нема</i> - не се забележува формирање на реактивен дентин по должина на аксијалниот ѕид
<i>Слабо</i> - незначителна депозиција на реактивен дентин по должина на аксијалниот ѕид
<i>Умерено</i> - умерена депозиција на реактивен дентин по должина на аксијалниот ѕид
<i>Изразено</i> - интензивна депозиција на реактивен дентин по должина на аксијалниот ѕид

МИКРОБИОЛОШКИ ИСПИТУВАЊА

Директното влијанието на испитуваните материјали врз растот и развојот на *S mutans*, кариогена бактерија, го одредувавме со примена на агар-дифузионата метода.

Бактериските соеви беа инокулирани во 3ml декстрога бујон и инкубирани на t 37°C. Бактериските клетки беа ресуспендирани во физиолошки раствор до заматеност од 0,5 McFarland (10^8 cfu/ml) мерени со спектрофотометар. Петриеви плочи со 13ml крвен агар беа инокулирани со 0,05ml од добиената микробиолошка суспензија и размачкана на површината со стерилен инструмент со цел да се добие конфлуентен раст на бактериите.

Потоа на инокулираните петриеви плочи поставивме стерилни дискови од филтер хартија со дијаметар од 6мм на кои аплициравме по 20 μ l од Prime&Bond i G bond, а глас јономер цементите GC Fuji Lining LC i Fuji IX со оглед на нивната конзистенција ги аплициравме директно на плочите. Зоната на инхибиција продуцирана околу материјалот ја меревме по инкубација од 24 часа.

За да го испитаме влијанието на дентинот врз антимикуробниот ефект на испитуваните материјали подготвивме дентински дискови од моларни заби. Со дијамантски борер, со водено ладење, исековме дентински дискови со дебелина 0,5мм. Размачканиот слој од површината на дисковите го отстранивме со 15% EDTA (Ethylenediamine tetraacetic acid), а потоа ги плакневме со физиолошки раствор и ги стерилизиравме во автоклав (121°C за 25 мин). Дентинските дискови ги поделивме во четири групи од по десет примероци.

На дисковите од првата група на едната страна аплициравме Prime & Bond, кај дисковите од втората група аплициравме Fuji Lining LC, кај примероците од третата група аплициравме Fuji IX, а кај четвртата група G Bond. При

апликација на материјалот се раководеме според препораките на производителот.

Вака подготвените дентински дискови со страната на која сме го аплицирале денталниот материјал ги ставивме во петриеви садови инокулирани со кариогени микроорганизми и ги инкубиривме на $t\ 37^{\circ}\text{C}$ за период од 24 часа.

Вториот дел од испитувањето го направивме само кај оние дентални материјали кои покажаа антибактериско дејствување, со цел да го испитаеме влијанието на дентинот на бактерицидниот ефект на адхезивното средство. За таа цел на дисковите подготвени на претходно опишаниот начин го аплициравме материјалот кој покажал атимикробно дејствување. Вака подготвените дентински дискови со страната спротивна од онаа на која сме го аплицирале денталниот материјал ги ставивме во петриеви садови инокулирани со кариогени микроорганизми и ги инкубиривме на $t\ 37^{\circ}\text{C}$ за период од 24 часа.

Микробиолошките испитувања беа направени на Институтот за микробиологија и паразитологија при Медицинскиот факултет во Скопје

СТАТИСТИЧКА ОБРАБОТКА НА ПОДАТОЦИТЕ

Во статистичката обработка на добиените резултати од студијата користени се декриптивни и аналитички статистички методи.

За опис на добиените резултати ги користевме следните дескриптивни статистички методи:

Аритметичка средина, минимум, максимум, ранг, стандардна девијација, стандардна грешка, медијана, фреквенци, пропорции, кростабулации;

За тестирање на нултата хипоотеза и донесување на валидни заклучоци ги користевме следните методи на аналитичка статистика (статистички тестови) и тоа параметриски:

1. АНОВА (analysis of variance) за нумерички обележја на набљудување

2. АНОВА за атрибутивни обележја на набљудување (т.е. за пропорции)
3. Како најсофистициран тест за меѓугрупните разлики го користевме тестот на квадрат на најмали разлики (ЛСД тест).
4. Коефициент на линеарна корелација по Пирсон
5. Студентов т-тест за два врзани примероци

Нивоите на веројатност на остварување на нултата хипотеза согласно меѓународните стандарди за био-медицински науки се 0,05 и 0,01.

Севкупната статистичка анализа е направена компјутерски со помош на статистичка програма на Институтот за медицинска статистика на Медицинскиот Факултет во Белград.

Добиените резултати се прикажани табеларно и графички.

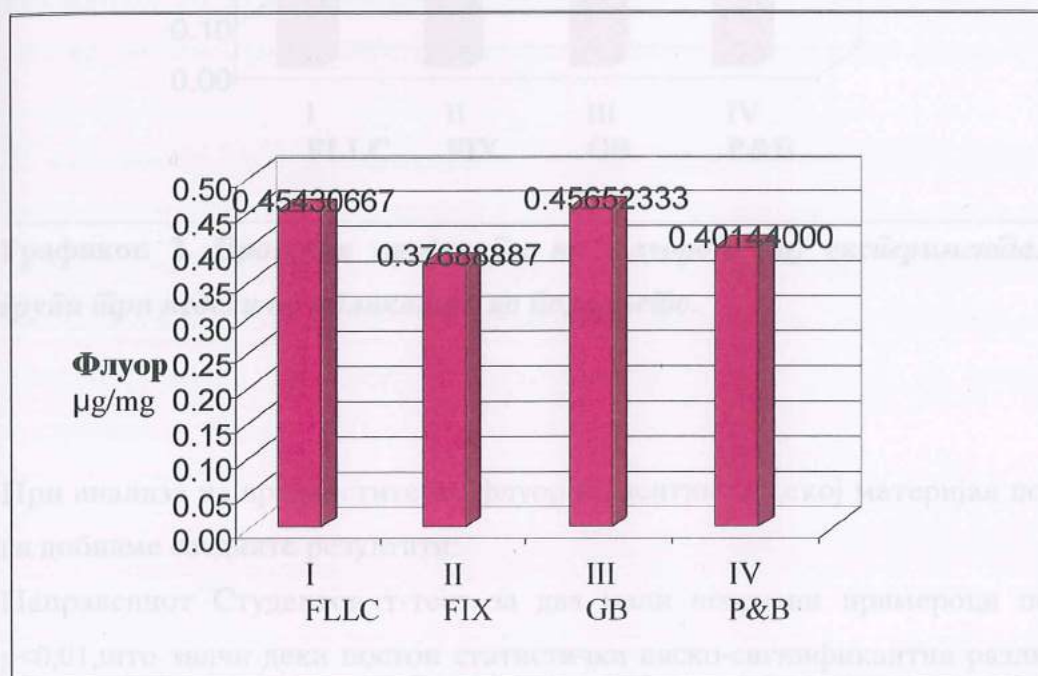
РЕЗУЛТАТИ

РЕЗУЛТАТИ

Во текстот што следува ги презентираме резултатите добиени од спроведените мерења и анализи на зададените параметри во оваа докторска дисертација.

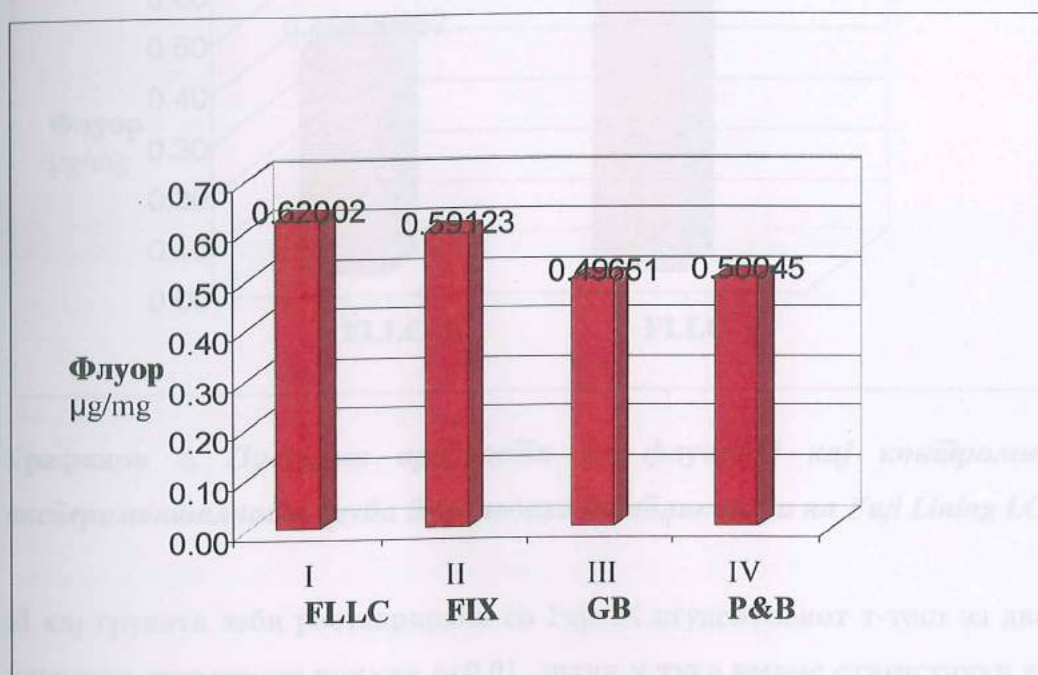
Резултати добиени од мерењата на концентрацијата на флуор калциум

На графиконот 1. се прикажани просечните вредности на концентрацијата на флуор кај контролните примероци од групата по три недели. ANOVA за нумерички обележја на набљудување покажа $p < 0,001$, што значи дека постои статистички високо-значајна разлика во просечните вредности на флуорот кај контролните примероци од ова група. Статистички високо-значајно доминира количината на флуор кај групата на G Bond, потоа следат групите на Fuji Lining LC, Prime&Bond и Fuji IX.



Графикон 1. Просечни вредности на флуорот кај контролните примероци од групата од три недели.

Направената ANOVA за нумерички обележја на набљудување за експерименталните примероци три недели по апликација на полнењето покажа $p < 0,01$, што значи дека постои статистички високо-значајна разлика во просечните вредности на флуорот помеѓу испитуваните групи (Графикон 2). Највисоки вредности добивме кај експерименталната група на Fuji Lining LC, а најниски кај групата на G Bond. Не постои статистички сигнификантна разлика помеѓу групата на G Bond и Prime&Bond.

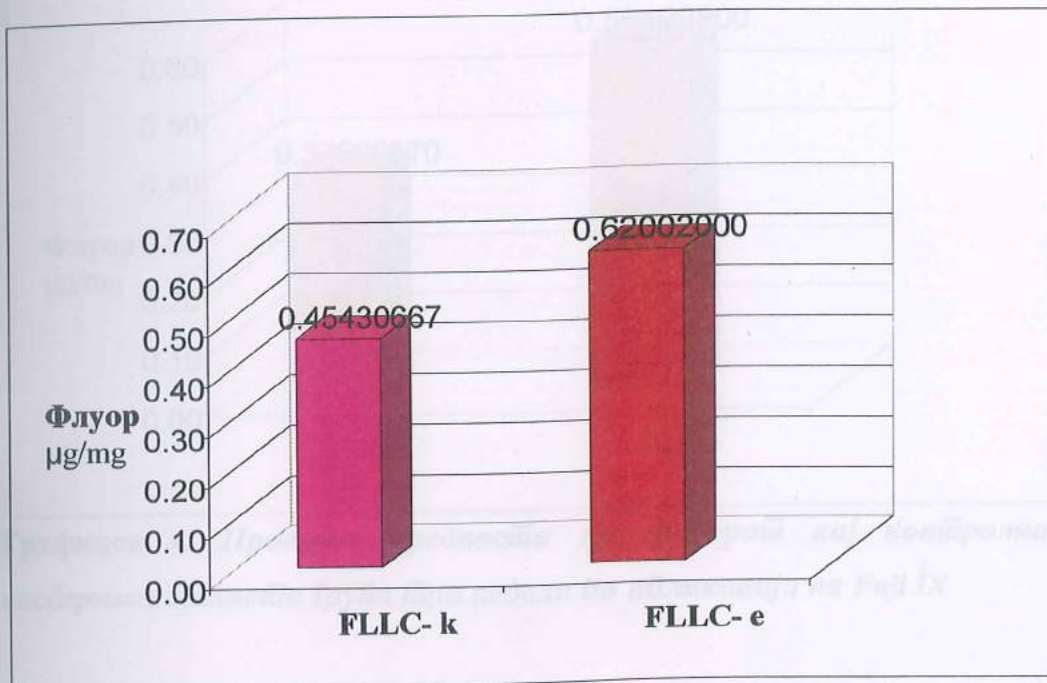


Графикон 2. Просечни вредности на флуорид кај експерименталните групи три недели од апликација на полнењето.

При анализа на вредностите на флуор во дентин за секој материјал посебно ги добивме следните резултати:

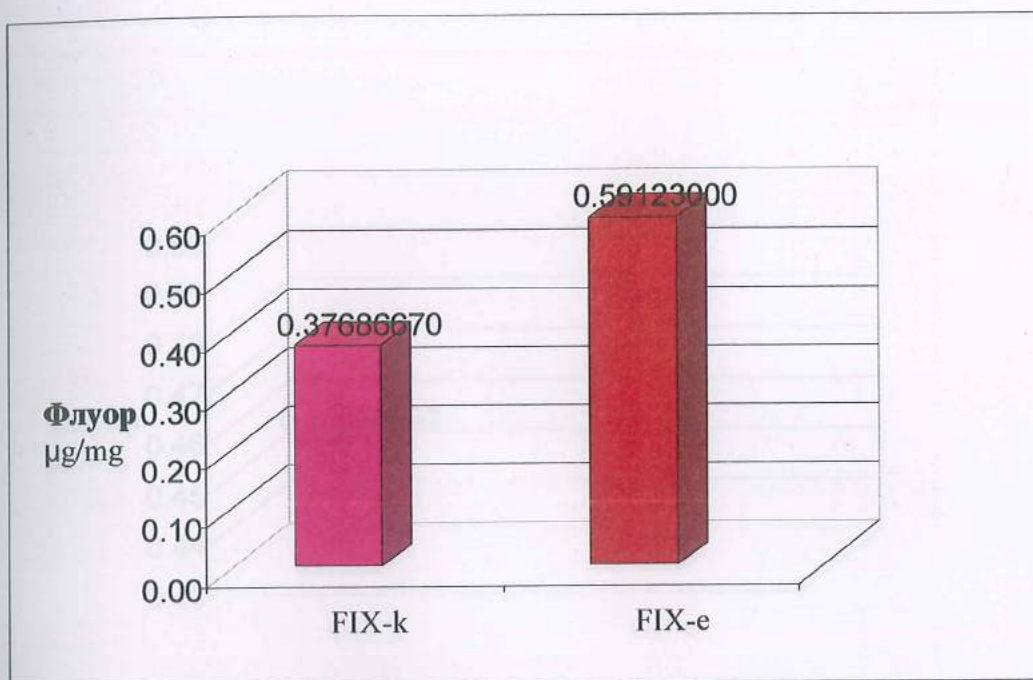
Направениот Студентов т-тест за два мали неврзани примероци покажа $p < 0,01$, што значи дека постои статистички високо-сигнификантна разлика во

просечните вредности на флуорот помеѓу контролната и експерименталната група три недели по апликација на Fuji Lining LC(графикон 3).



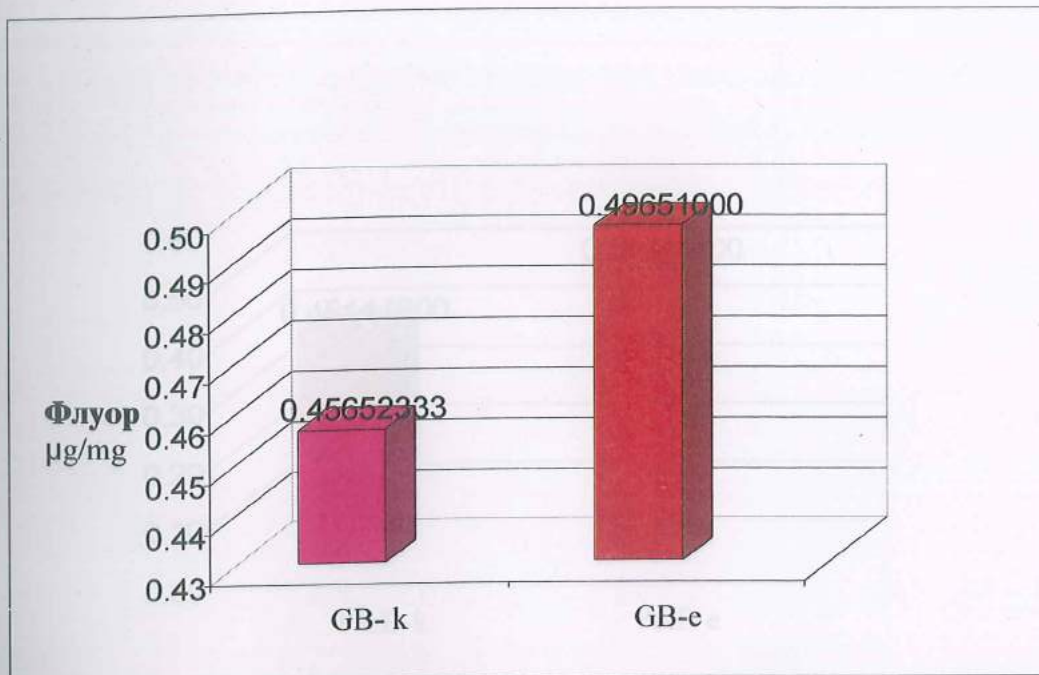
Графикон 3. Просечни вредности на флуорот кај контролната и експерименталната група три недели по апликација на Fuji Lining LC.

И кај групата заби реставрирани со Fuji IX студентовиот т-тест за два мали неврзани примероци покажа $p < 0,01$, значи и тука имаме статистички високо-значајна разлика во концентрацијата на флуор помеѓу контролната и експерименталната група три недели по апликација на материјалот, т.е концентрацијата на флуор кај експерименталната група е значително поголема споредено со контролната(графикон 4).



Графикон 4. Просечни вредносѝи на флуороѝ кај конѝролнаѝа и експерименталнаѝа грѝуѝа ѝри недели ѝо аѝликација на Fuji IX

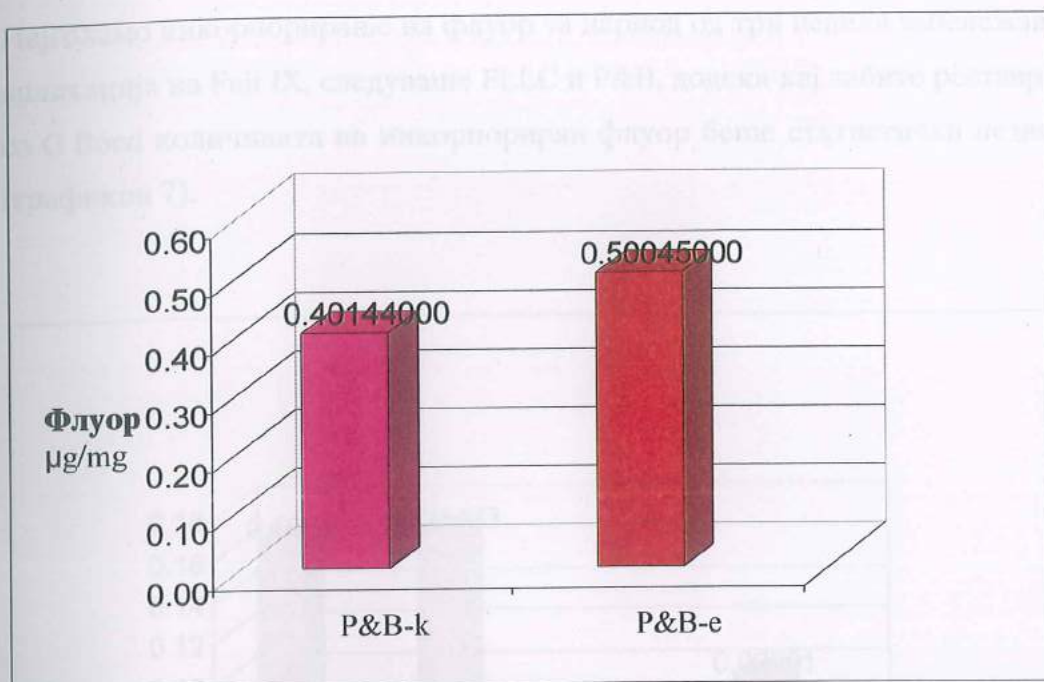
На графикон 5 се прикажани просечните вредности на концентрацијата на флуор кај контролната и испитуваната група три недели по апликација на GC G Bond. Со статистичка обработка на податоците добивме $p > 0,01$ што покажува дека кај ова група на заби не постои статистички значајна разлика во просечните вредности на флуорот помеѓута контролна и експериментална група по апликација на GC G Bond.



Графикон 5. Просечни вредности на флуор кај контролна и испитувана група шест недели по апликација на G Bond.

Кај четвртата група на заби каде аплициравме Prime&Bond студентовиот т-тест за два мали неврзани примероци покажа $p < 0,01$, што значи дека и тука постои статистички високо-значајна разлика во измерените просечни вредности на флуор помеѓу контролната и експерименталната група (графикон 6).

	FLU	FX	GB	P < 0.05
Аритметичка средина	1817	21433	2030038007	0.09001
Макимум	1862	21270	026180	08024
Минимум	1842	2207	05387	12676
Range	0.20	02216	02706	03854
Стандардна девијација	00178071	016985811	011308532	020127602
Стандардна грешка	01051207	0016054011	0040065425	0082170531
Медијана	1862	21493	041565	09801



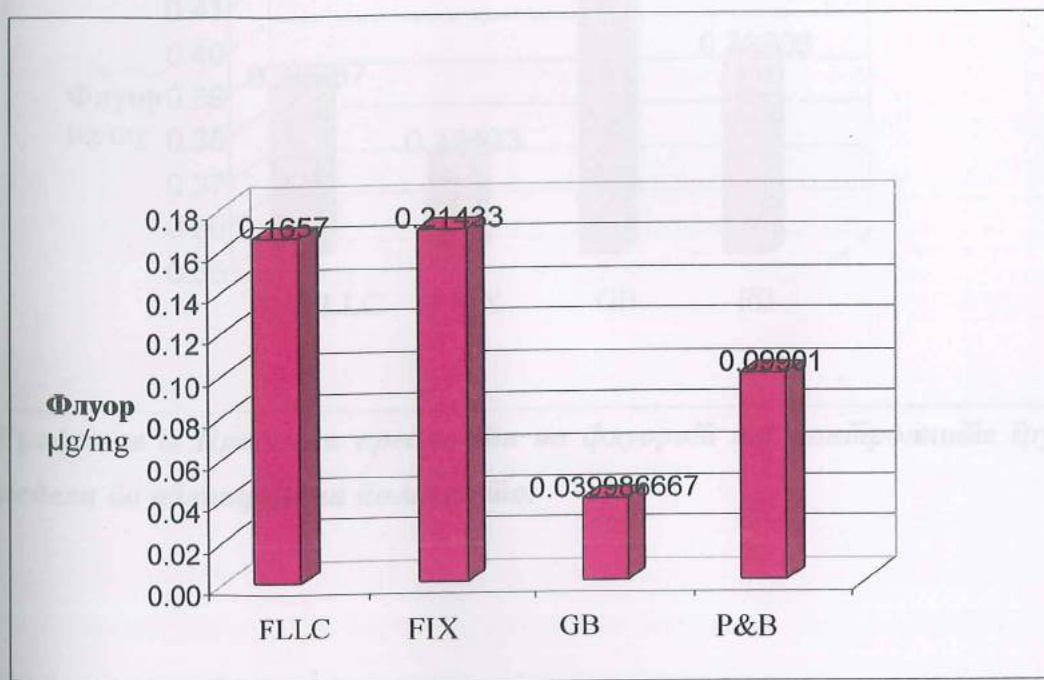
Графикон 6. *Просечни вредности на флуор кај контролната и експерименталната група три недели по апликација на Prime&Bond.*

Направената ANOVA за нумерички обележја на набљудување покажа $p < 0,01$, значи постои статистички високо-значајна разлика во просечните вредности на инкорпориран флуор помеѓу испитуваните групи (табела 3).

Табела 3. *Разлика во нивојо на флуор меѓу контролната и испитуваната група 3 недели по апликација на мајеријалот*

	FLLC	FIX	GB	P&B
Аритметичка средина	.1657	.21433	0.039986667	0.09901
Минимум	.14552	.202790	.026190	.06924
Максимум	.18432	.22597	.05327	.12878
Ранг	.0388	.02318	.02708	.05954
Стандардна девијација	.068179071	.085865911	.011266532	.020127602
Стандардна грешка	.0006817907	.0035054611	.0045995425	.0082170591
Медијана	.16929	.21433	.041555	.09901

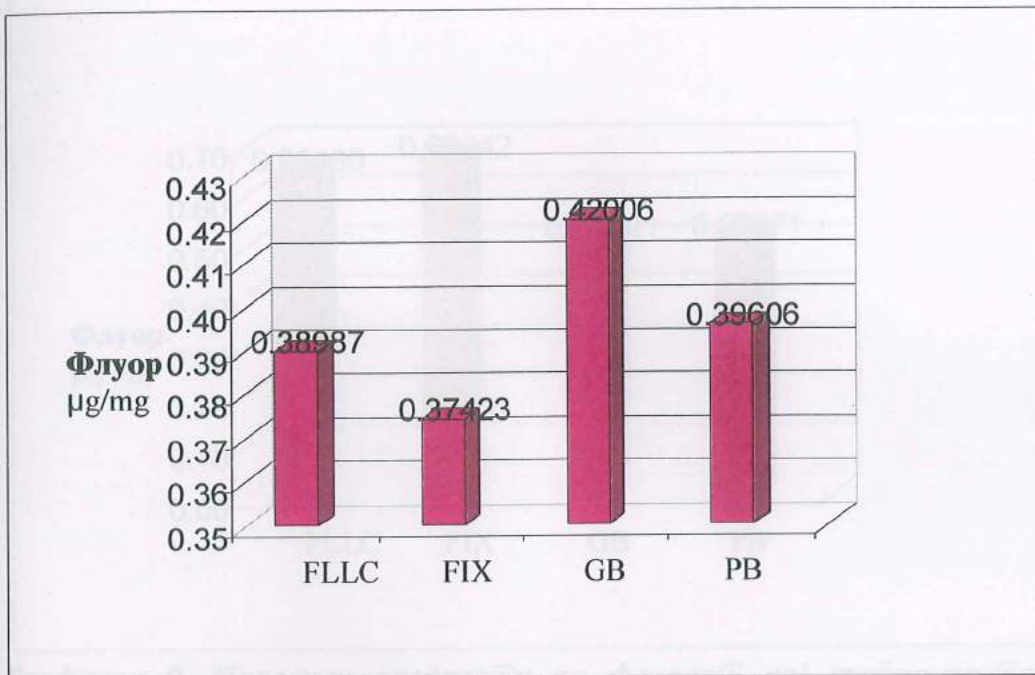
Најголемо инкорпорирање на флуор за период од три недели забележавме по апликација на Fuji IX, следуваше FLLC и P&B, додека кај забите реставрирани со G Bond количината на инкорпориран флуор беше статистички незначајна (графикон 7).



Графикон 7. Разлика во нивојто на флуор меѓу контролните и испитуваните групи три недели по апликација на материјалот.

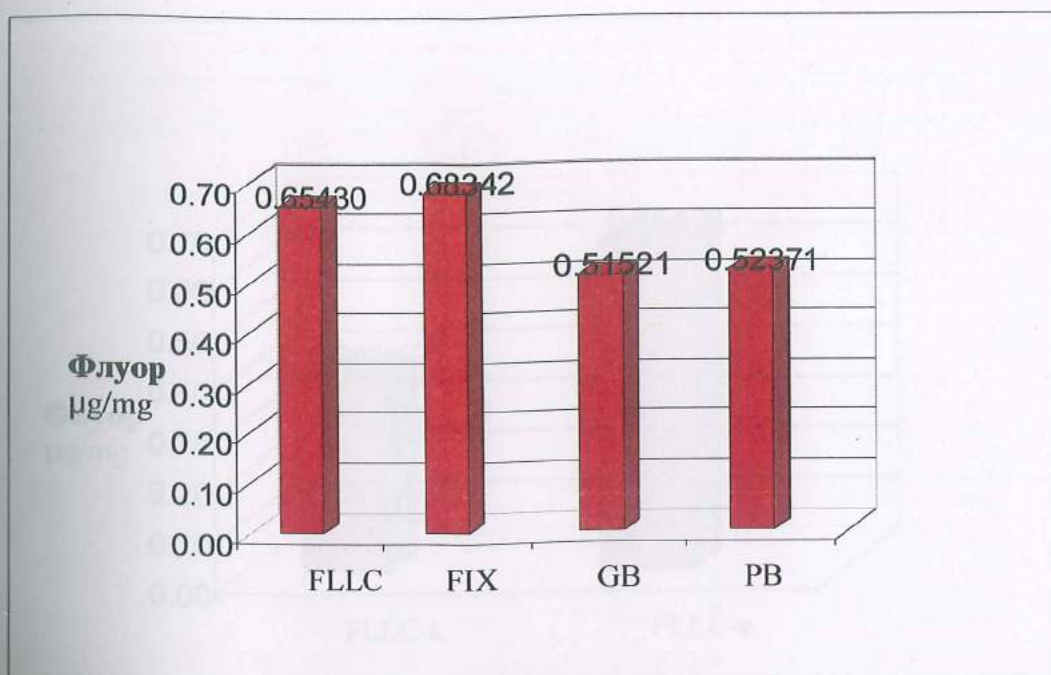
Резултати добиени од мерењата на концентрацијата на флуор за период од 10 недели

Направената ANOVA за нумерички обележја на набљудување покажа $p < 0,01$, што значи дека постои статистички високо-значајна разлика помеѓу просечните вредности на флуорот кај контролните групи десет недели по апликација на полнењето. Највисоки вредности беа измерени кај групата на G Bond, а најниски кај групата на Fuji IX (графикон 8).



Графикон 8. Просечни вредности на флуориди кај контролните групи 10 недели по апликација на полнењето.

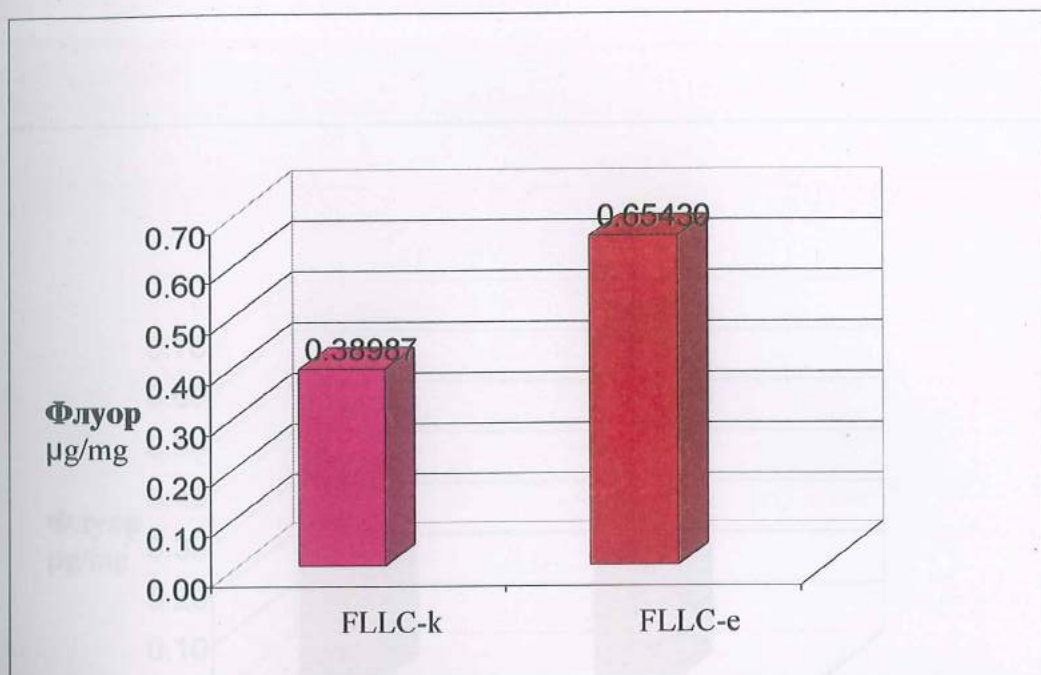
Статистичката обработка на просечните вредности на флуорот кај експерименталните групи покажа $p < 0,01$ што значи дека постои статистички високо-значајна разлика во просечните вредности на флуорот помеѓу одделни групи десет недели по апликација на полнењето-статистички високо-сигнификантно доминира кај групата на Fuji IX, следуваат групите на Fuji Lining LC, Prime&Bond i GBond (графикон 9).



Графикон 9. Просечни вредносѝи на флуорои кај експерименталниѝе групи 10 недели по апликација на ѝолнеѝе

При анализа на вредностите на флуор во дентин за секој материјал посебно ги добивме следните резултати:

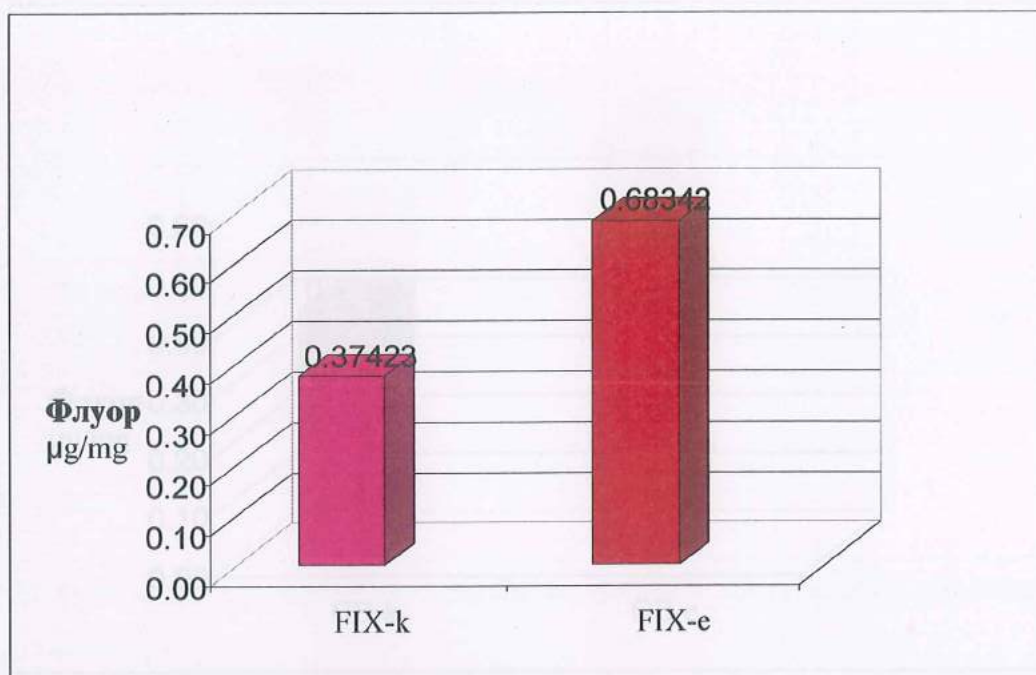
Направениот Студентов т-тест за два мали неврзани примероци покажа вредност за $p < 0,01$ т.е. дека постои високо-статистички значајна разлика во вредностите на флуорот помеѓу експерименталната група реставрирана со Fuji Linin LC споредено со соодветната контролна група за период од десет недели (графикон 10).



Графикон 10. Просечни вредности на флуорид кај контролната и експерименталната група 10 недели по апликација на Fuji Lining LC

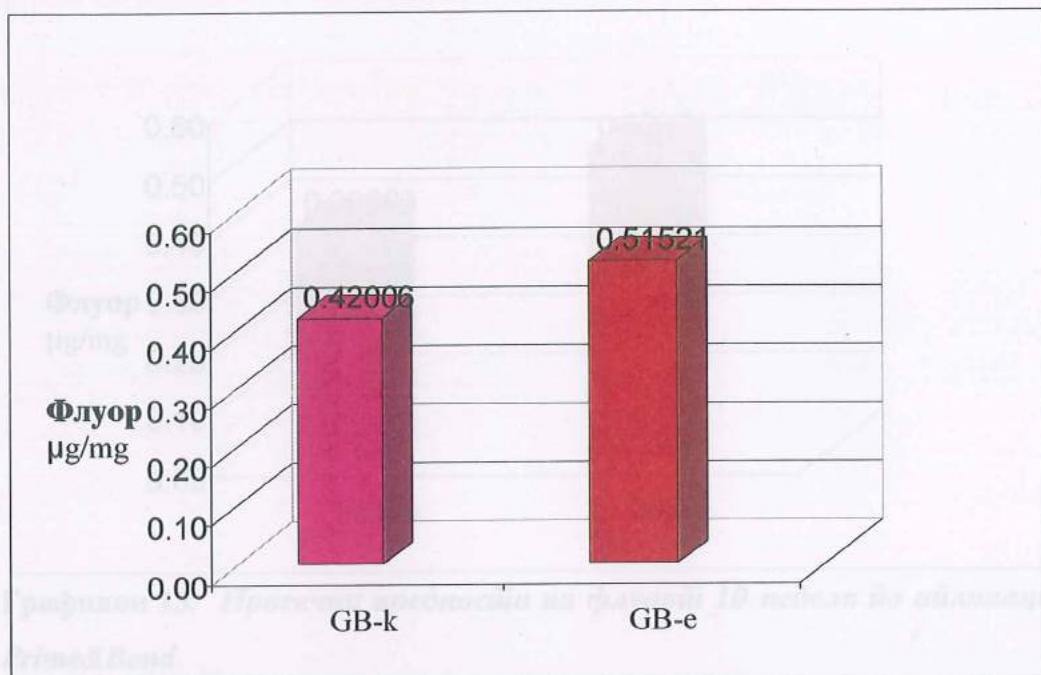
Графикон 11. Просечни вредности на флуорид кај контролната и експерименталната група 10 недели по апликација на Fuji IX.

И кај групата на заби реставрирани со Fuji IX со статистичка обработка на податоците добивме вредности за $p < 0,01$ што не упатува на заклучокот дека постои статистички високо-значајна разлика во нивото на флуор помеѓу контролната и експерименталната група реставрирана со Fuji IX за период од десет недели, т.е. концентрацијата на флуор кај експерименталната група е значително поголема од концентрацијата на флуор измерена кај контролните групи(графикон 11).



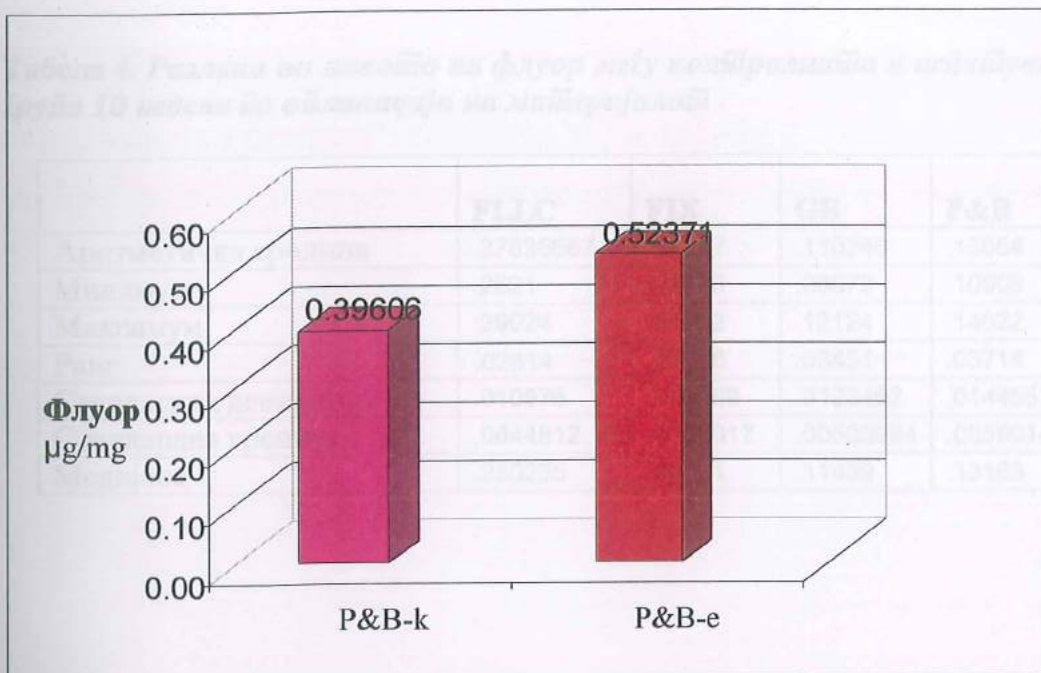
Графикон 11. Просечни вредности на флуорид кај контролната и експерименталната група 10 недели по апликација на Fuji IX.

За разлика од претходните две групи, студентовиот т-тест за два мали неврзани примероци кај групата заби реставрирани со G Bond покажа вредности за $p > 0,01$, што упатува на тоа дека добиените разлики помеѓу контролната и испитуваната група за G-Bond се недоволни за да бидат статистички потврдени (Графикон 12).



Графикон 12. Просечни вредности на флуорид кај контролните и експерименталните групи 10 недели по апликација на GC G Bond.

Направениот Студентов т-тест за два мали неврзани примероци покажа вредности за $p < 0,01$ што значи дека постои статистички високо значајна разлика помеѓу контролата и експерименталната група по реставрација на забите со Prime&Bond за период од десет недели (графикон 13).



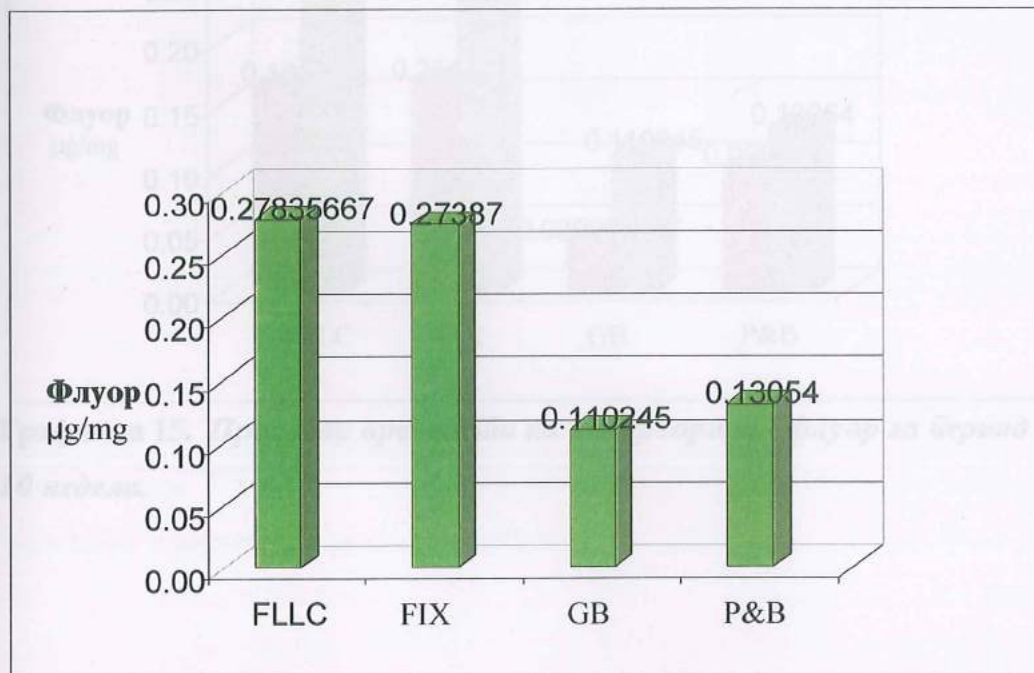
Графикон 13. Просечни вредности на флуориди 10 недели по апликација на Prime&Bond

При статистичка анализа на добиените резултати за количината на инкорпориран флуор, ANOVA за нумерички обележја на набљудување покажа вредност за $p < 0,01$, т.е дека постои високо-статистички значајна разлика во количината на инкорпориран флуор за период од десет недели помеѓу испитуваните реставративни материјали. Најголемо инкорпорирање на флуор во дентин забележавме кај примероците реставрирани со Fuji IX и Fuji Lining LC, додека кај примероците реставрирани со G Bond количината на инкорпориран флуор беше најмала и статистички незначајна.

Не постоеше статистички значајна разлика во количината на инкорпориран флуор меѓу забите реставрирани со Fuji IX и Fuji Lining (табела 4, графикон 14).

Табела 4. Разлика во нивојто на флуор меѓу контролните и испитуваните групи 10 недели по апликација на материјалот

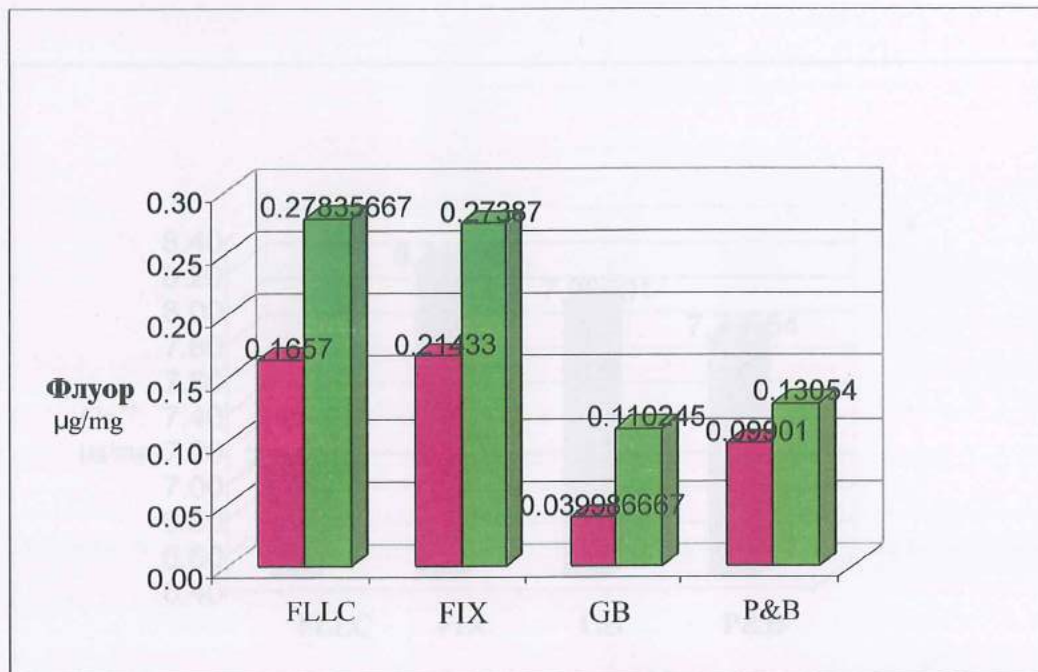
	FLLC	FIX	GB	P&B
Аритметичка средина	.27835667	.27387	.110245	.13054
Минимум	.2621	.23606	.08673	.10908
Максимум	.29024	.31252	.12124	.14622
Ранг	.02814	.07646	.03451	.03714
Стандардна девијација	.010976	.026189	.0123452	.014455
Стандардна грешка	.0044812	.0106917	.00503994	.00590147
Медијана	.280235	.26881	.11439	.13163



Графикон 14. Разлика во нивојто на флуор меѓу контролните и испитуваните групи 10 недели по апликација на материјалот

Резултати добиени од мерењима на конзервација на

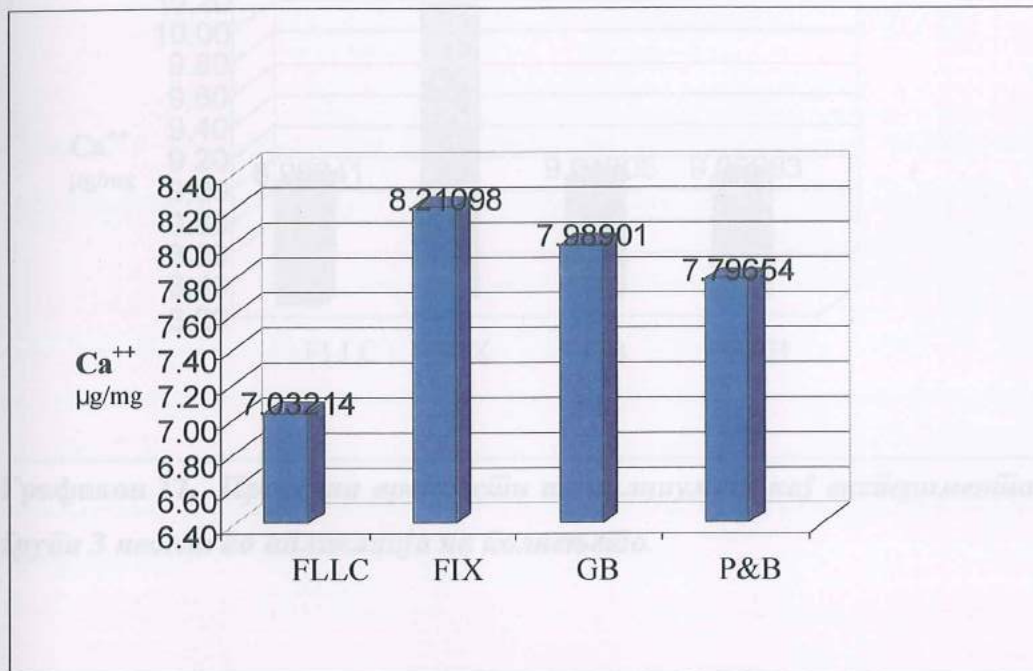
Направените Студентови т-тестови за два врзани примероци покажаа дека кај сите испитувани групи постои статистички високо-значајна разлика ($p < 0,01$) во вредностите на инкорпориран флуор за 3 и 10 недели, што значи дека количината на инкорпориран флуор во денгин за период од 10 недели е значително поголема од количината на флуор инкорпориран за 3 недели (графикон 15).



Графикон 15. Просечни вредности на инкорпориран флуор за период од 3 и 10 недели.

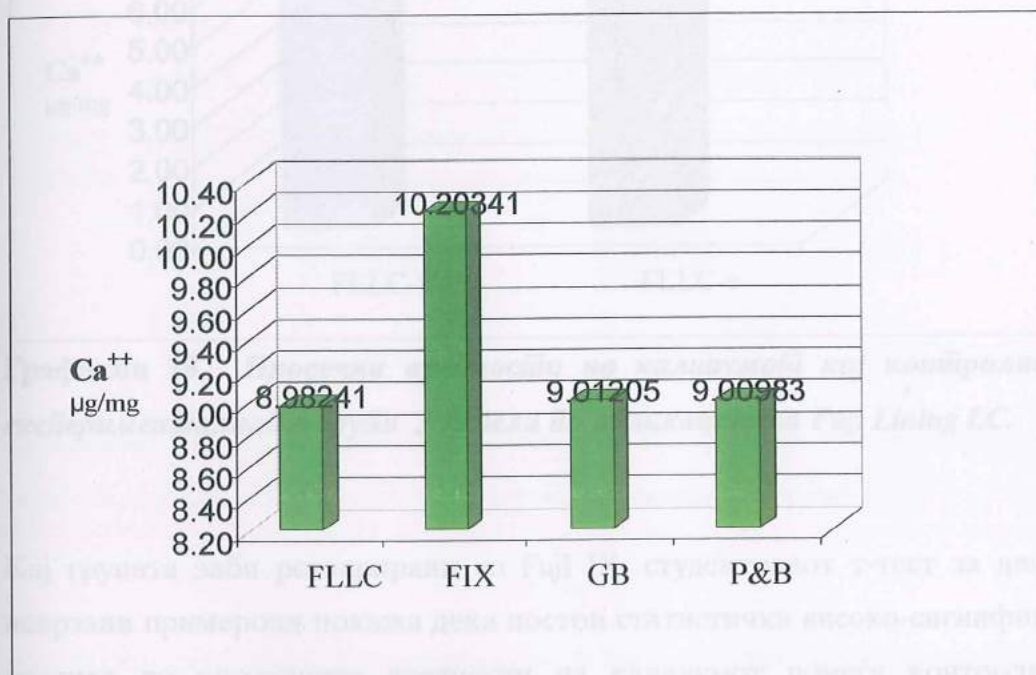
Резултати добиени од мерења на концентрација на калциум за период од 3 недели

Направената ANOVA за нумерички обележја на набљудување покажа дека $p < 0,01$, значи постои статистички високо-значајна разлика во просечните вредности на калциумот помеѓу контролните групи, доминира во втората, три недели по апликација на полнењето (графикон 16).



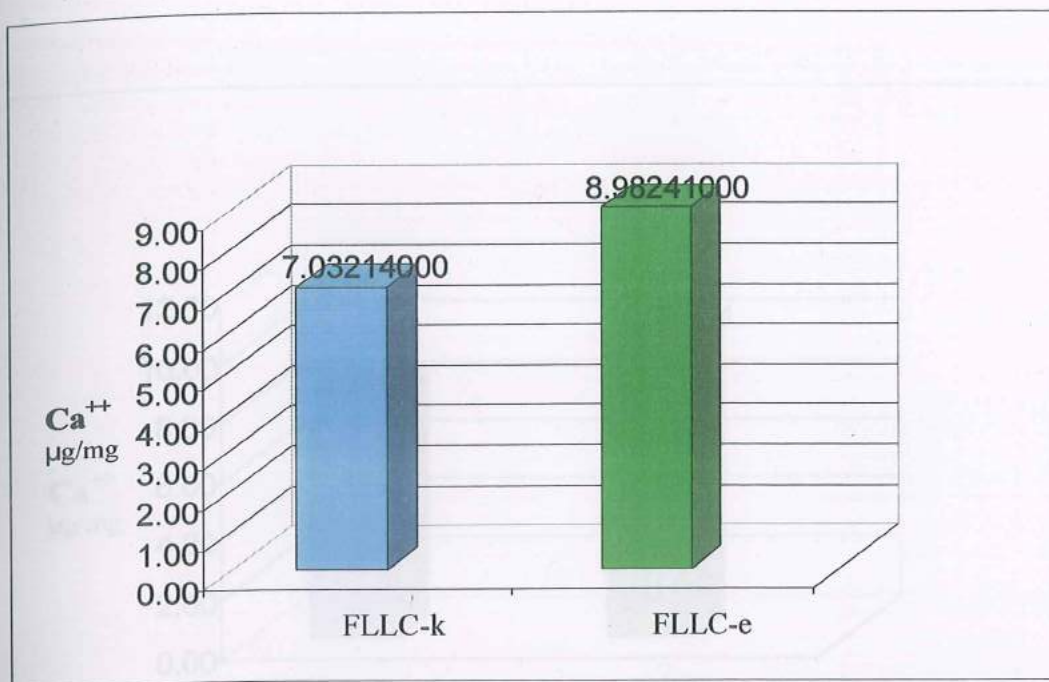
Графикон 16. Просечни вредности на калциумот кај контролните групи 3 недели по апликација на полнењето.

И кај експерименталните групи направената ANOVA за нумерички обележја на набљудување покажа вредности за $p < 0,01$, значи постои високо-статистички значајна разлика во вредностите на калциумот кај експерименталните групи три недели по апликација на полнењето, доминира во групата реставрирана со Fuji IX (графикон 17).



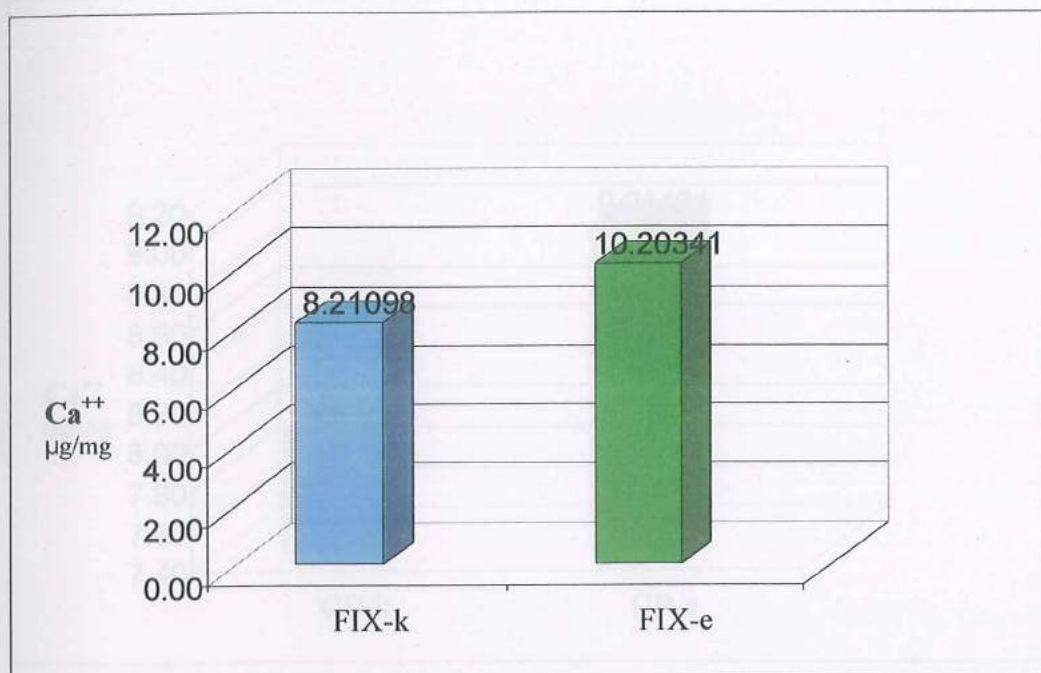
Графикон 17. Просечни вредности на калциумот кај експерименталните групи 3 недели по апликација на полнењето.

Направениот Студентов т-тест за два мали неврзани примероци покажа вредности за $p < 0,01$, што значи дека концентрацијата на калциум кај експерименталната група е статистички сигнификантно повисока во споредба со истата кај контролната група 3 недели по апликација на Fuji Lining LC (графикон 18).



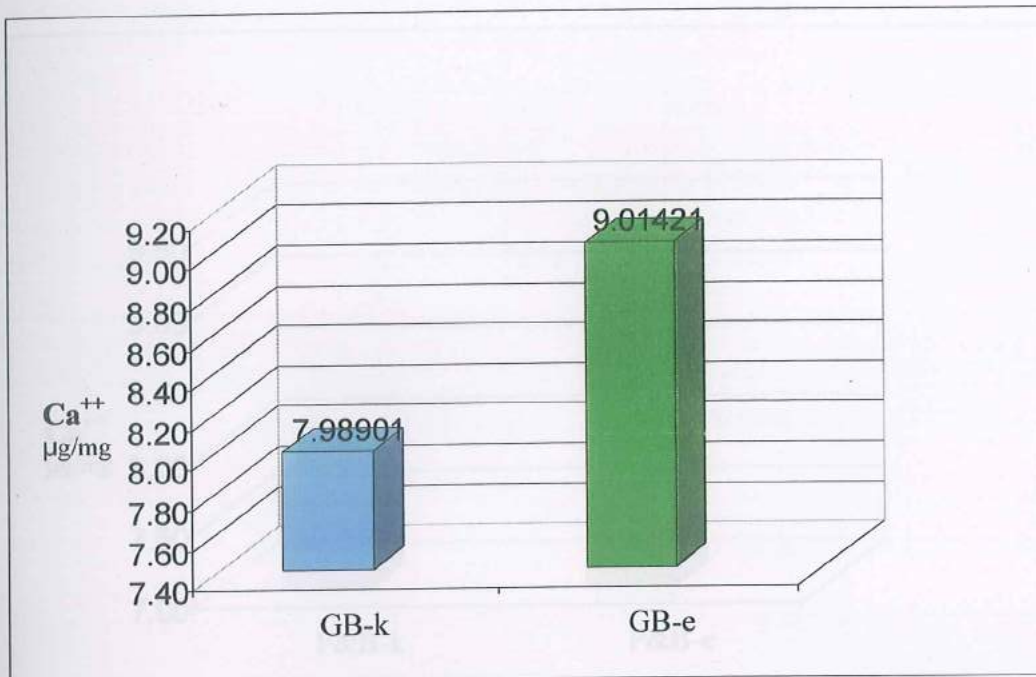
Графикон 18. *Просечни вредносии на калциумоѝ кај контролнатиѝа и експерименталнатиѝа група 3 недели по апликација на Fuji Lining LC.*

Кај групата заби реставрирани со Fuji IX, студентовиот т-тест за два мали неврзани примероци покажа дека постои статистички високо-сигнификантна разлика во просечните вредности на калциумот помеѓу контролната и експерименталната група, $p < 0,01$, три недели по апликација на полнењето (графикон 19).



Графикон 19. *Просечни вредности на калциумот кај контролната и експерименталната група 3 недели по апликација на Fuji IX.*

Кај тртата група заби реставрирани со G Bond добивме вредност за $p < 0,01$, т.е. статистички сигнификантно повисоко ниво на калциум кај експерименталната во однос на контролната група три недели по апликација на полнењето (графикон 20).

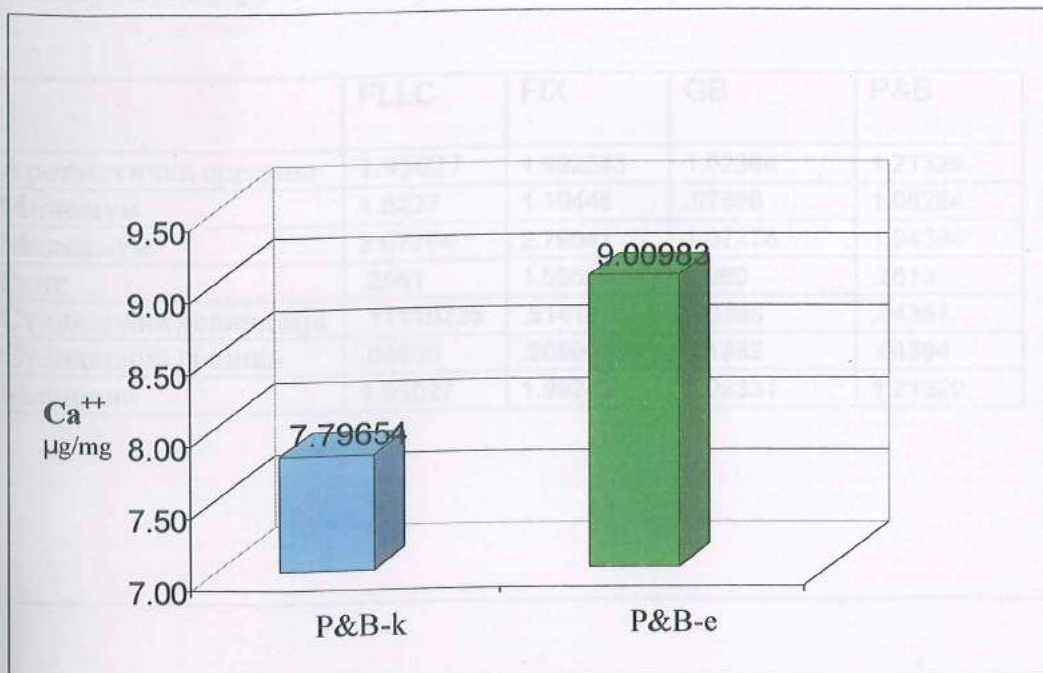


Графикон 20. *Просечни вредности на калциумот кај контролната и експерименталната група 3 недели по апликација на GC G Bond.*

На табела 5 и графикон 20 се прикажани просечните вредности на калциумот кај дентин 3 недели по апликација на материјалот. Студентовиот т-тест за два мали неврзани примероци кај четвртата група на заби реставрирани со Prime&Bond покажа ($p < 0,01$) дека и тука имаме статистички сигнификантно повисока концентрација на калциум кај експерименталната во однос на контролната група 3 недели по апликација на полнењето (графикон 21).

Средната концентрација на калциум кај групите реставрирани со Fuji Lining LC и Fuji IX се значително различни, а концентрациите на калциумот кај групите реставрирани со G Bond и Prime&Bond.

Не постои статистички сигнификантен разлик во концентрациите на калциумот меѓу примероците реставрирани со Fuji Lining LC и Fuji IX, како и меѓу примероците реставрирани со G Bond и Prime&Bond.



Графикон 21. Просечни вредности на калциумој кај контролната и експерименталната група 3 недели по апликација на Prime& Bond.

На табела 5 и графикон 22 се прикажани просечните вредности на инкорпориран калциум во дентин 3 недели по апликација на материјалот.

АНОВА за нумерички обележја на набљудување покажа дека $p < 0,01$, што значи дека постои статистички високо-сигнификантна разлика во просечните вредности на инкорпориран калциум помеѓу групите за период од три недели.

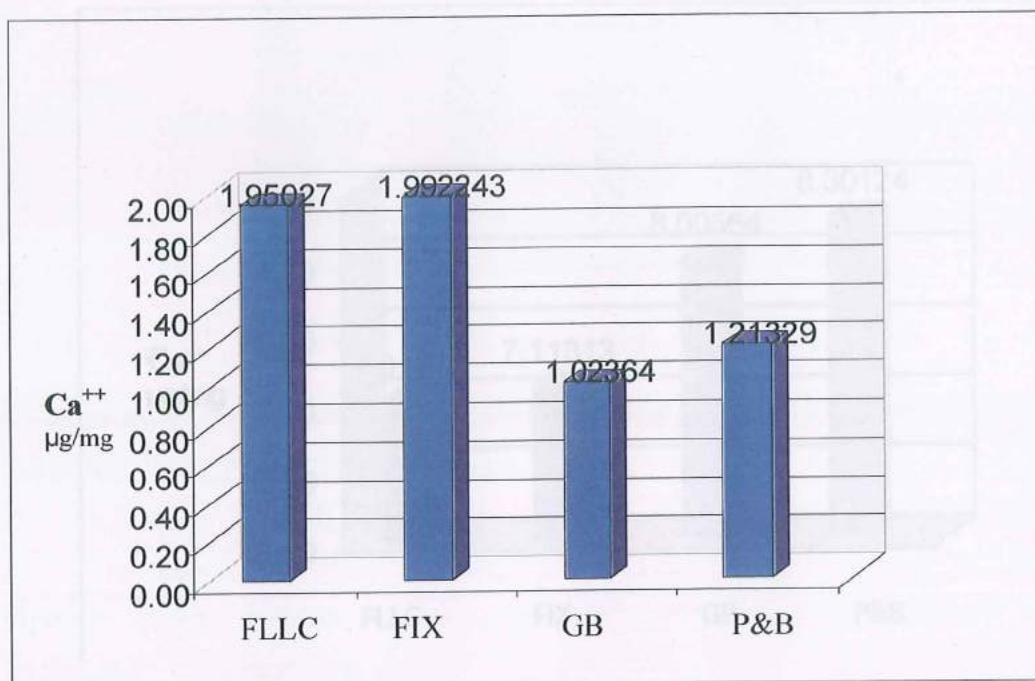
ЛСД тестовите за меѓугрупни разлики покажаа:

Количината на инкорпориран калциум кај групите реставрирани со Fuji Lining LC и Fuji IX се разликува статистички значајно со количината на инкорпориран калциум кај групите реставрирани со G Bond и Prime&Bond.

Не постои статистички сигнификантна разлика во количината на инкорпориран калциум меѓу примероците реставрирани со Fuji Lining LC и Fuji IX, како и меѓу примероците реставрирани со G Bond и Prime&Bond.

Табела 5. Разлика во нивојо на калциум меѓу контролната и испитуваната група 3 недели по апликација на материјалот.

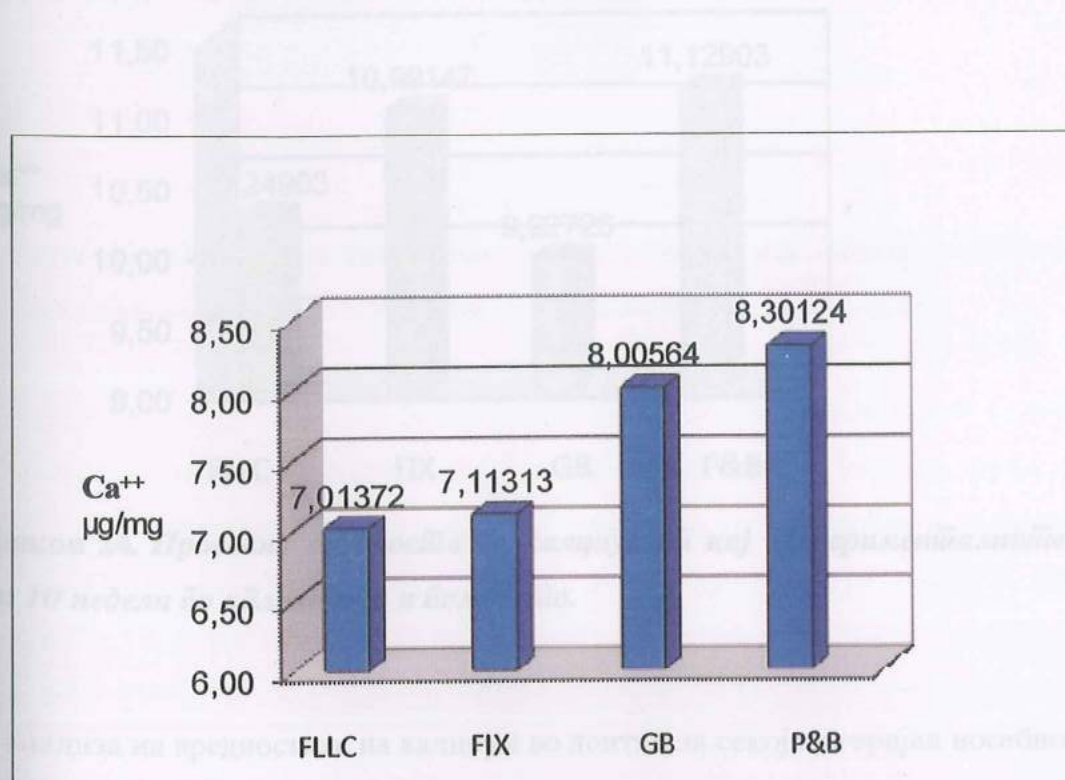
	FLLC	FIX	GB	P&B
Аритметичка средина	1.95027	1.992243	1.02364	1.21329
Минимум	1.8227	1.19445	.97586	1.08264
Максимум	2.07784	2.79041	1.07276	1.34394
Ранг	.2551	1.59596	.0969	.2613
Стандардна девијација	.11110235	.5141676	.03386	.04394
Стандардна грешка	.04536	.20990806	.01382	.04394
Медијана	1.95027	1.99243	1.02331	1.21329



Графикон 22. Разлика во нивојо на калциум меѓу контролната и испитуваната група 3 недели по апликација на материјалот

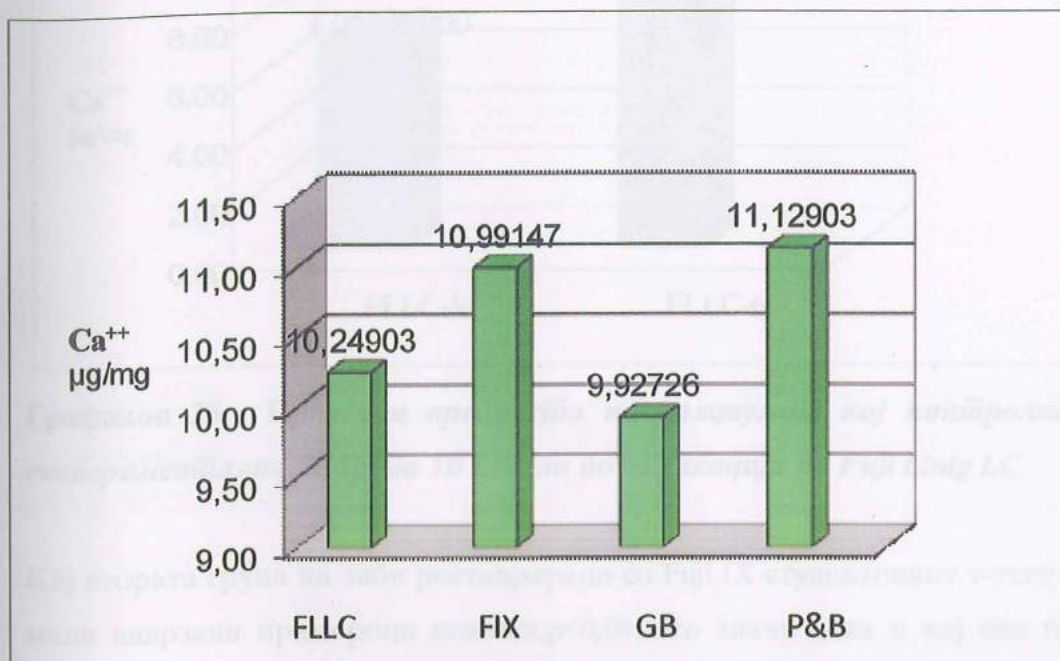
Резултати добиени од мерења на концентрацијата на калциум за период од 10 недели

Направената ANOVA за нумерички обележја на набљудување покажа $p < 0,01$, постои статистички високо-значајна разлика во просечните вредности на калциумот помеѓу контролните групи за период од десет недели, со исклучок на групите на Fuji Lining LC и Fuji IX каде не забележавме статистички значајна разлика во концентрацијата на калциумот (графикон 23).



Графикон 23. *Просечни вредности на калциумот кај контролните групи 10 недели по апликација на полењето.*

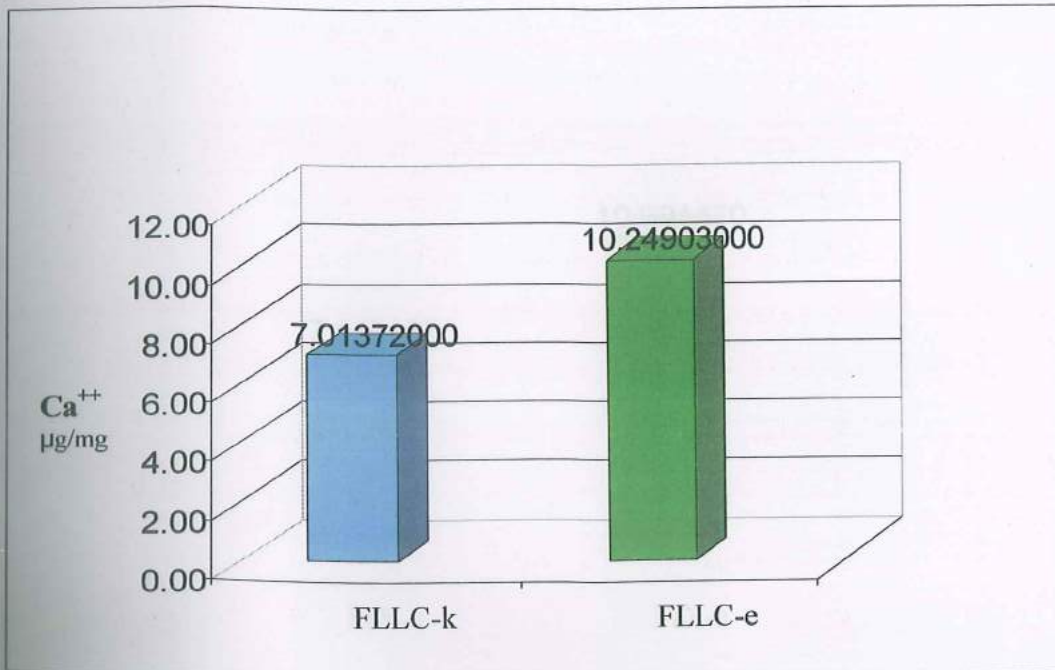
Направената АНОВА за нумерички обележја на набљудување кај експерименталните групи покажа $p < 0,01$, значи постои високо-статистички значајна разлика во просечното ниво на калциум во дентин помеѓу реставративните материјали (графикон 24).



Графикон 24. *Просечни вредности на калциумот кај експерименталните групи 10 недели по апликација и полекување.*

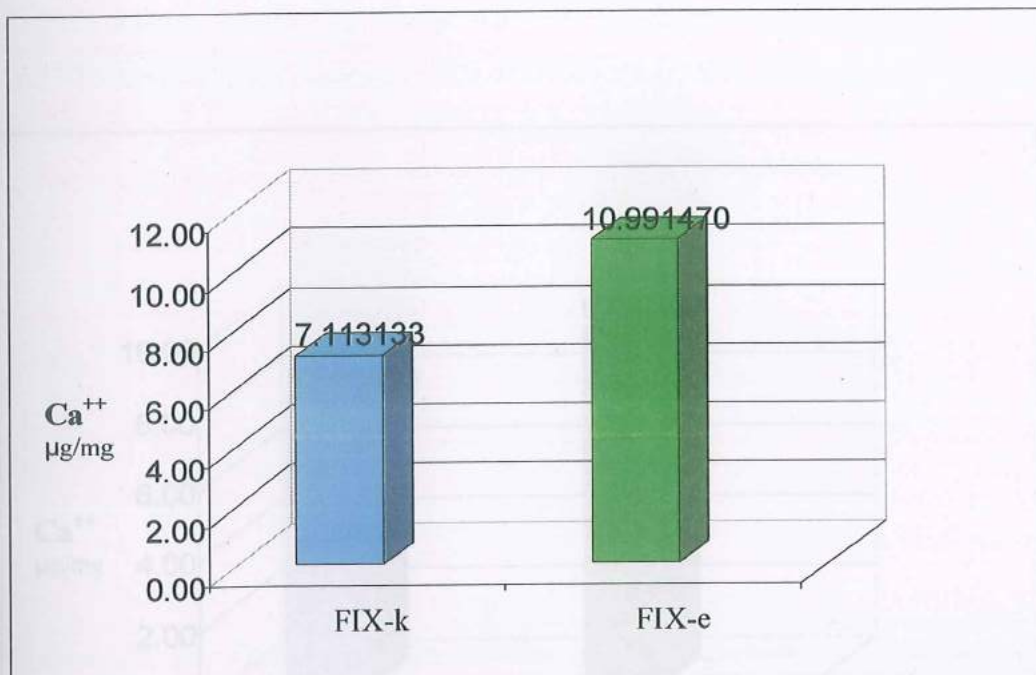
При анализа на вредностите на калциум во дентин за секој материјал посебно ги добивме следниве резултати:

Студентовиот т-тест за два мали неврзани примероци покажа, $p < 0,01$, дека постои високо-статистички значајна разлика во нивото на калциум помеѓу контролна и експериментална група реставрирана со Fuji Linig LC десет недели по апликација на полнењето (графикон 25).



Графикон 25. *Просечни вредности на калциумот кај контролната и експерименталната група 10 недели по апликација на Fuji Linig LC*

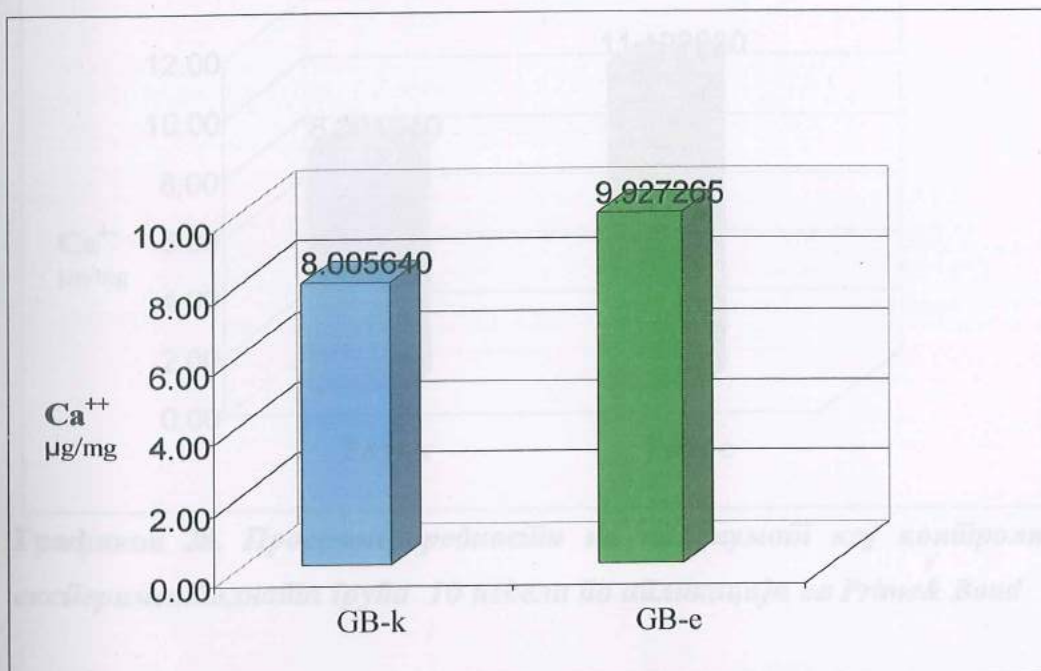
Кај втората група на заби реставрирани со Fuji IX студентовиот т-тест за два мали наврзани примероци покажа, $p < 0,01$, што значи дека и кај ова група з постои статистички високо-значајна разлика во калциумот помеѓу контролната и експерименталната група десет недели по апликација на полнењето, т.е концентрацијата на калциум кај експерименталната група е значително повисока од концентрацијата на калциум кај контролната група (графикон 26).



Графикон 26. Просечни вредности на калциумот кај контролната и експерименталната група 10 недели по апликација на Fuji IX

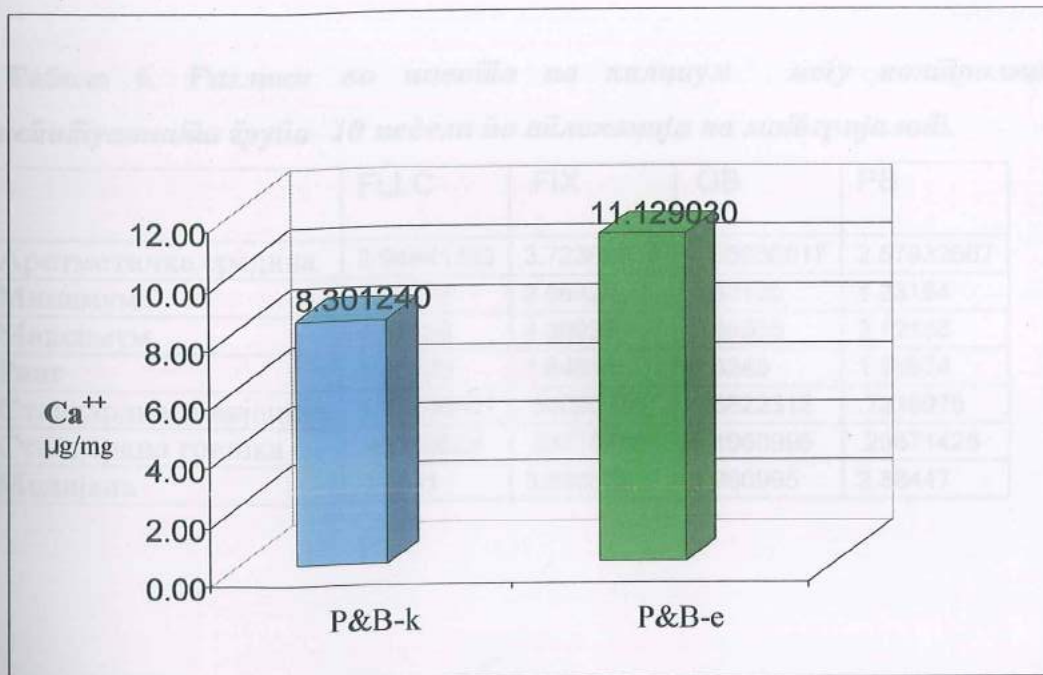
Графикон 27. Просечни вредности на калциумот кај контролната и експерименталната група 10 недели по апликација на G C G Bond

И кај групата заби реставрирани со G Bond направениот Студентов т-тест за два мали наврзани примероци покажа: $t=23,04, DF=10, p<0,01$, што значи дека и тука постои статистички високо-значајна разлика во просечните вредности на калциумот за период од 10 недели помеѓу контролната и експерименталната група (графикон 27).



Графикон 27. Просечни вредносѝи на калциумоѝи кај контролнаѝа и експерименталнаѝа група 10 недели по апликација на GC G Bond.

Статистички високо-значајна разлика, $p < 0,01$ во нивото на калциум за период од десет недели помеѓу експерименталната и контролната група беше забележано и кај забите реставрирани со Prime&Bond (графикон 28).



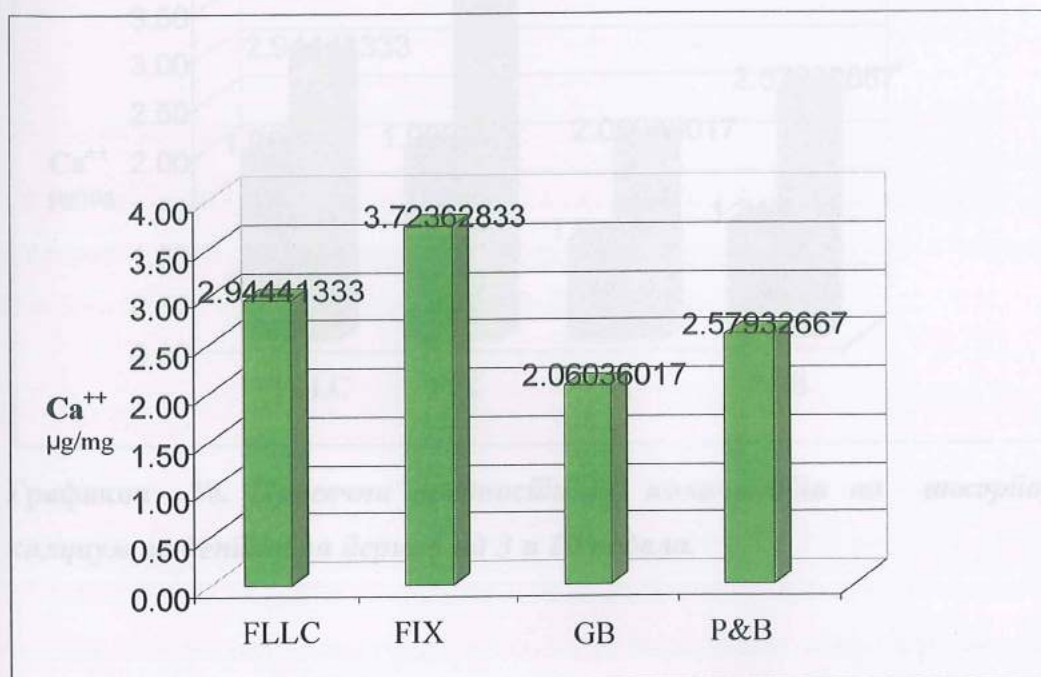
Графикон 28. *Просечни вредности на калциумот кај контролната и експерименталната група 10 недели по апликација на Prime& Bond*

АНОВА за нумерички обележја на набљудување покажа вредност за $p < 0,01$, што значи дека постои статистички високо-сигнификантна разлика во просечните вредности на калциумот помеѓу контролната и испитуваната група десет недели по апликација на материјалот (табела 6).

ЛСД тестовите за меѓугрупни разлики покажаа дека најголемо инкорпорирање на калциум е забележано кај групата реставрирана со Fuji IX, следуваа групите реставрирани со FujiLining LC и Prime&Bond, а најмало инкорпорирање на калциум за период од десет недели е забележано кај групата на GC G Bond (графикон 29).

Табела 6. Разлика во нивојо на калциум меѓу контролната и испитуваната група 10 недели по апликација на материјалот.

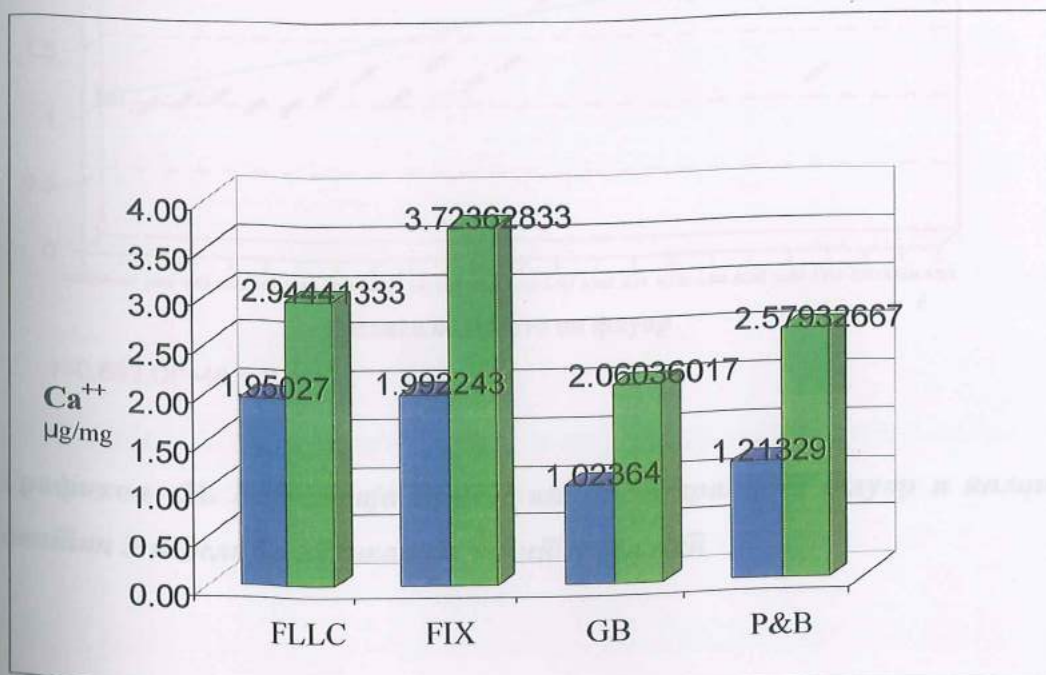
	FLLC	FIX	GB	PB
Аритметичка средина	2.94441333	3.72362833	2.06036017	2.57932667
Минимум	1.27835	2.66422	1.63105	1.23184
Максимум	4.35038	4.30936	2.95555	3.12158
Ранг	3.07203	1.64514	1.3245	1.88974
Стандардна девијација	1.06186661	.58090839	.46822313	.7316975
Стандардна грешка	.43350523	.23715486	0.1960995	.29871425
Медијана	3.1741	3.860325	1.960995	2.88447



Графикон 29. Разлика во нивојо на калциум меѓу контролната и испитуваната група 10 недели по апликација на материјалот

Студентовите т-тестови за врзани примероци покажаа дека кај групите заби реставрирани со Fuji IX, Gbond i Prime&Bond $p < 0,01$ т.е. постои статистички високо-значајна разлика во количината на инкорпориран калциум во дентин за период од три и десет недели(графикон 30).

Кај групата заби реставрирани со Fuji Lining LC нема статистички значајна разлика, $p > 0,01$ во количината на инкорпориран калциум во дентин меѓу групата од три и десет недели.



Графикон 30. Просечни вредности на количината на инкорпориран калциум во дентин за период од 3 и 10 недели.

Корелација на флуор и калциум

Корелација по Пирсон покажа високо-статистички значајна позитивна корелација во количината на инкорпориран флуор со количината на вграден калциум за период од 3 недели $p < 0,01$ (графикон 31)



Графикон 31. Корелација помеѓу инкорпорираној флуор и калциум во дентин 3 недели по апликација на мјеријалот

На графикон 32 е прикажана корелацијата помеѓу инкорпорираниот калциум и флуор во дентин за периодод десет недели. Врз основа на статистичката обработка на добиените резултати можеме да кажеме дека постои статистички значајна позитивна корелација меѓу вградувањето на флуор со вградувањето на калциум ($p<0,05$ за дадениот период).



Графикон 32. Корелација помеѓу инкорпорираној флуор и калциум во денџин 10 недели по апликација на мѝеријалој

РЕЗУЛТАТИ ОД ХИСТОЛОШКИТЕ ИСПИТУВАЊА

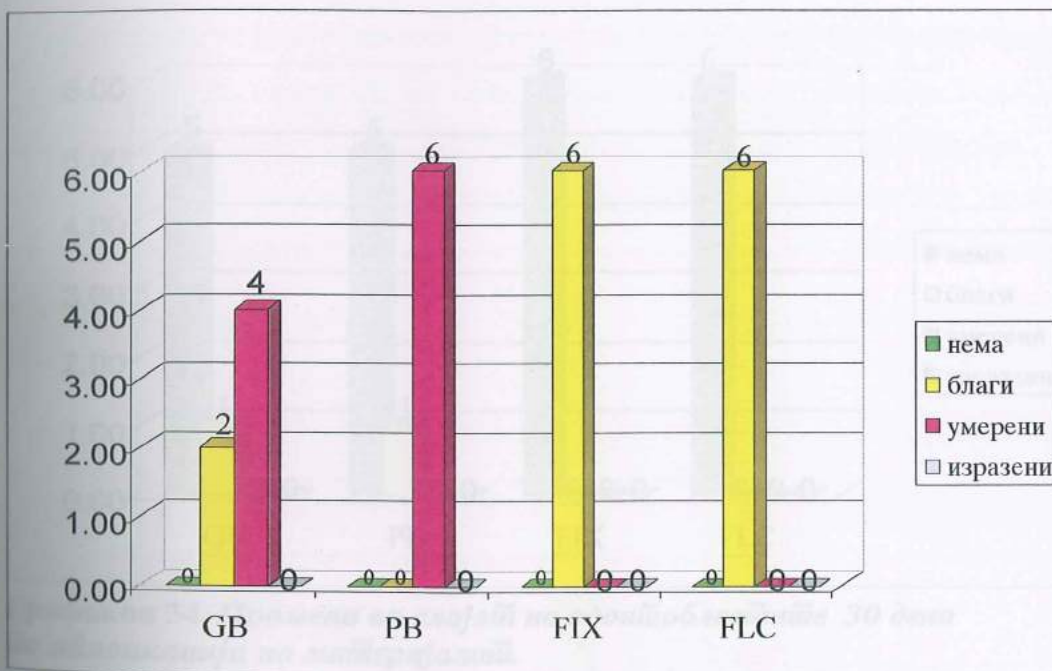
ПРОМЕНИ ВО СЛОЈОТ НА ОДОНТОБЛАСТИ

Седум дена по препаратјата и апликација на реставративниот материјал на хистолошките пресеци кај сите испитувани примероци беа забележани промени во слојот на одонтобластите.

При анализа на хистолошките препарати кај забите третираны со G Bond кај два од примероците најдовме благи промени во слојот на одонтобласты, додека пак кај четири од примероците овие промени беа од умерен карактер.

Кај примероците третирани со Prime&Bond кај сите шест примероци беа забележани умерени промени во слојот на одонтобласти со забележителна дисрупција и разретчување на клетките.

Кај третата и четвртата група на заби третирани со ГЈЦ Fuji Lining LC и Fuji IX кај сите испитувани примероци најдовме само благи промени во слојот на одонтобласти(графикон 33).



Графикон 33. Промени во слојот на одонтобластите 7 дена по апликација на мајеријалот.

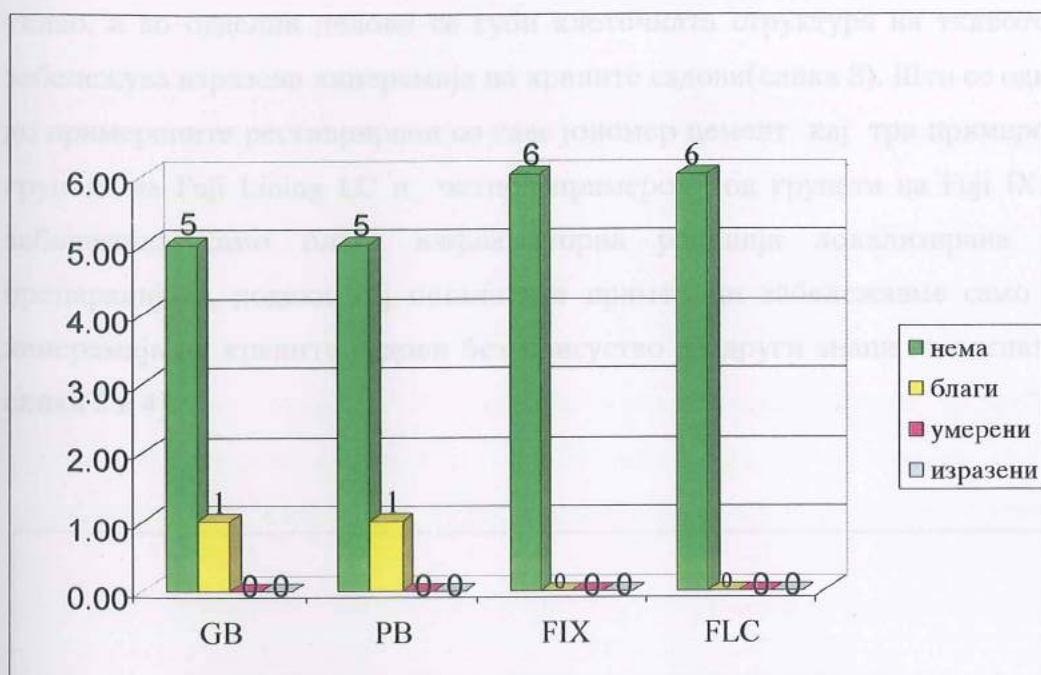
Направената ANOVA за пропорции покажа: $p < 0,05$, значи постои статистички значајна разлика во доминација на симптомите кај различните материјали кај групата од 7 дена, а LSD тестот покажа:

GB се разликува статистички значајно со FIX, FLC, PB

PB се разликува статистички значајно со FIX, FLC

FIX и FLC не се разликуваат меѓусебно

За период од триесет дена беа забележани само благи промени во слојот на одонтобласти кај еден примерок од групата на G Bond и еден примерок од групата на P&V, додека кај сите останати примероци хистолошки слојот на одонтобласти беше непроменет(графикон 34).



Графикон 34. Промени во слојот на одонтобластите 30 дена по апликација на материјалот.

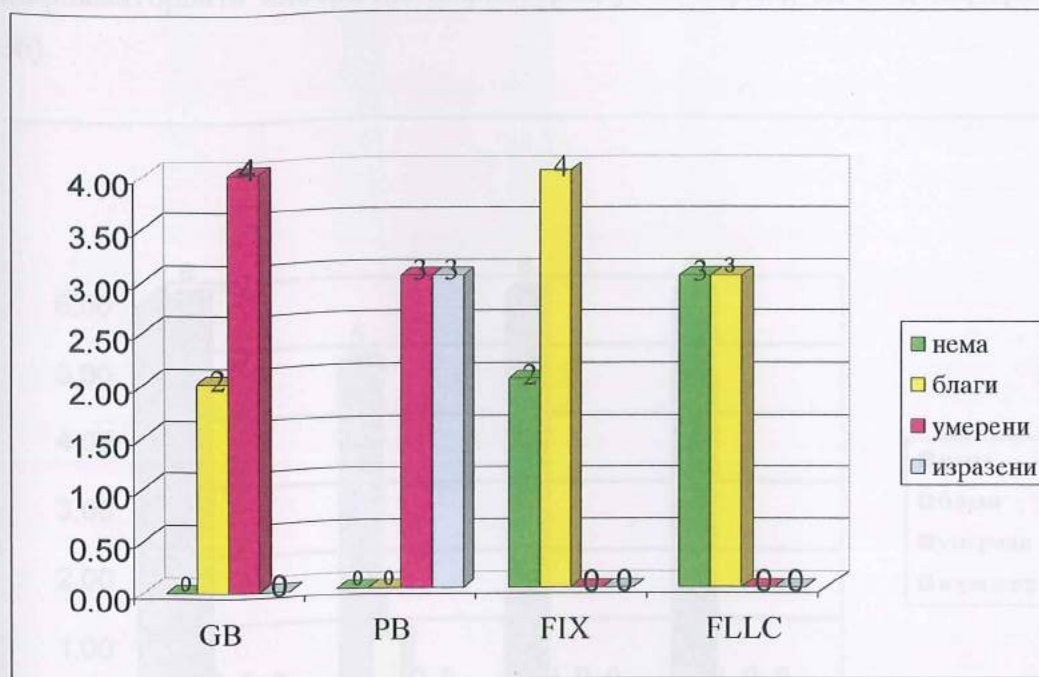
Направената ANOVA за пропорции (т.е. за атрибутивни обележја на набљудување) покажа: $p > 0,05$, нема статистички значајна разлика помеѓу испитуваните материјали во однос на хистолошките испитувања.

ИНФЛАМАТОРНА КЛЕТОЧНА ИНФИЛТРАЦИЈА

За период од седум дена кај сите испитувани примероци беше забележана појава на инфламаторна клеточна реакција со дилатирани и хиперемични крвни садови и присуство на инфламаторни клетки(графикон 35).

Кај групата заби третиран со G Bond кај четири од примероците беше забележана умерена инфилтрација со лимфоцити, а кај два од примероците воспалителниот одговор беше послаб(слика 6).

Најсилен воспалителен одговор забележавме кај забите реставрирани со Prime&Bond каде кај три од примероците беше забележана умерена инфламаторна реакција локализирана околу препарацијата со присуство на макрофаги, додека пак кај останатите три примероци забележавме присуство на јака лимфоцитарна инфилтрација која зафаќа поголем дел од пулпното ткиво, а во одделни делови се губи клеточната структура на ткивото и се забележува изразена хиперимија на крвните садови(слика 8). Што се однесува до примероците реставрирани со глас јономер цемент кај три примероци од групата на Fuji Lining LC и четири примероци од групата на Fuji IX беше забележана само блага инфламаторна реакција локализирана околу препарацијата, додека кај останатите примероци забележавме само блага хиперимија на крвните садови без присуство на други знаци на воспаление(слика 2 и 4).

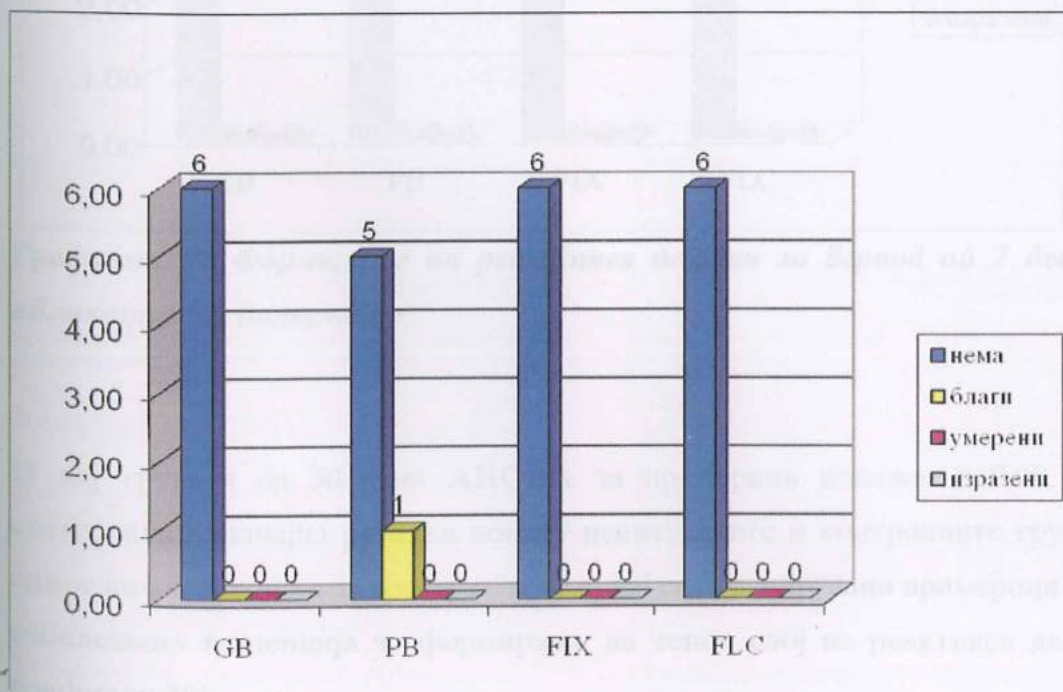


Графикон 35. Инфламаторна клеточна инфилтрација 7 дена по апликација на реставрационий материјал

ANOVA за пропорции покажа: $p < 0,01$, постои статистички високо-значајна разлика помеѓу испитуваните групи во однос на инфламаторната клеточна инфилтрација 7 дена по апликација на реставративното полнење, а LSD покажа: GB- се разликува статистички значајно со FIX, FLLC I P&B P&B се разликува статистички значајно со GB, FIX и FLC FIX и FLC не се разликуваат меѓусебно.

За период од 30 дена од поставување на реставративното полнење кај сите испитувани примероци од четирите групи можевме да забележиме дека настанала репарација на пулпното ткиво без присуство на инфламаторна клеточна инфилтрација (слика 3,5,7), освен кај групата на P&B каде кај еден од примероците забележавме перзистентна блага воспалителна реакција (слика 9).

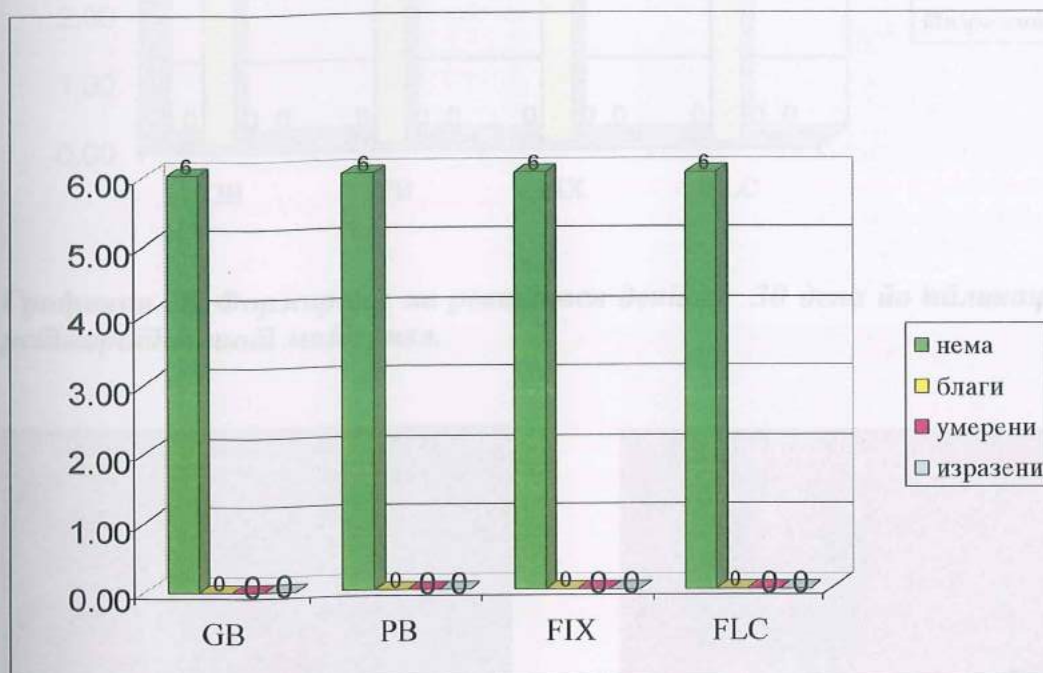
ANOVA за атрибутивни обележја на набљудување покажа: $p > 0,05$, нема статистички значајна разлика помеѓу испитуваните групи во однос на инфламаторната клеточна инфилтрација за период од 30 дена (графикон 36).



Графикон 36. Инфламаторна клеточна инфилтрација 30 дена по апликација на реставративното полнење.

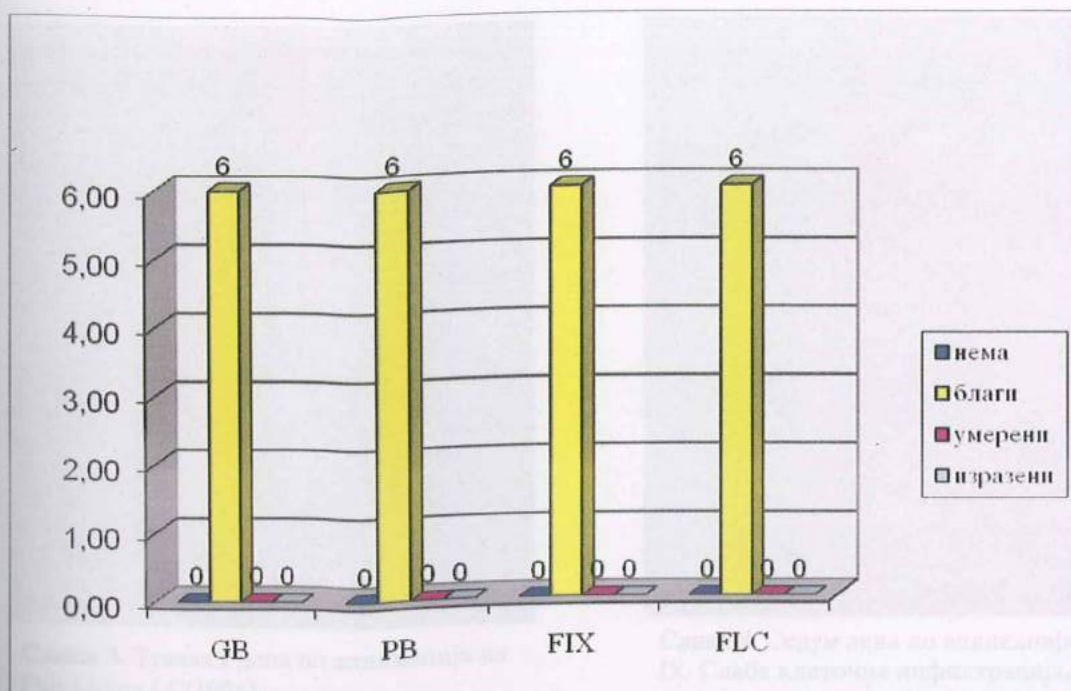
ФОРМИРАЊЕ НА РЕАКТИВЕН ДЕНТИН

Во однос на формирање на реактивен дентин ANOVA за пропорции покажа: $p > 0,05$, нема статистички значајна разлика во формирање на реактивен дентин за период од 7 дена кај испитуваните групи, т.е. кај ниеден од испитуваните примероци не беше забележано формирање на реактивен дентин (графикон 37).



Графикон 37. Формирање на реактивен дентин за период од 7 дена по апликација на полнењето

И кај групата од 30 дена ANOVA за пропорции покажа: $p > 0,05$, нема статистички значајна разлика помеѓу испитуваните и контролните групи во однос на хистолошкото испитување - т.е. кај сите испитувани примероци беше забележана тенденција за формирање на тенок слој на реактивен дентин (графикон 38).



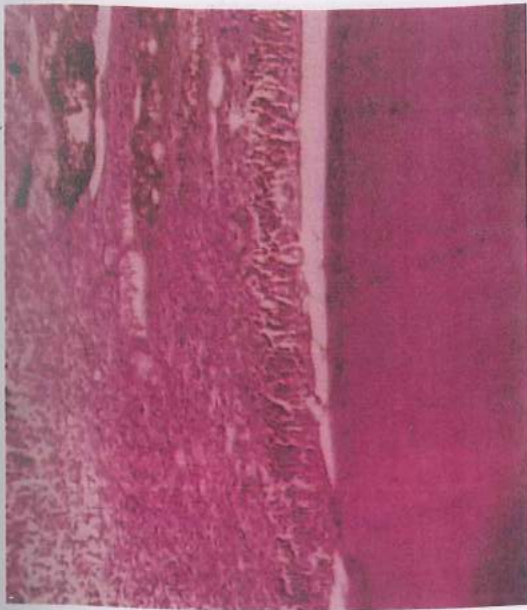
Графикон 38. Формирање на реактивен денџин 30 дена по апликација на реставрационниот материјал.



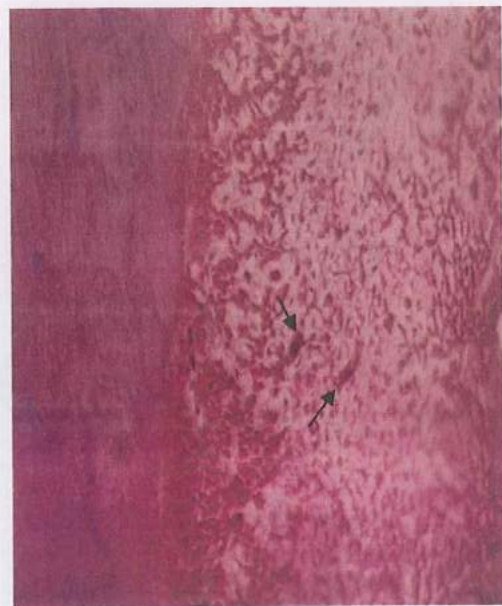
Слика 1. Нормална градба на пулно ткиво (100x).



Слика 2. Седум дена по апликација на Fuji Lining LC. Хиперимија и разретчување на слојот на одонтбласти (100x).



Слика 3. Триесет дена по апликација на Fuji Lining LC(100x).



Слика 4. Седум дена по апликација на Fuji IX. Слаба клеточна инфилтрација, разретчување во слојот на одонтобласти(100x).



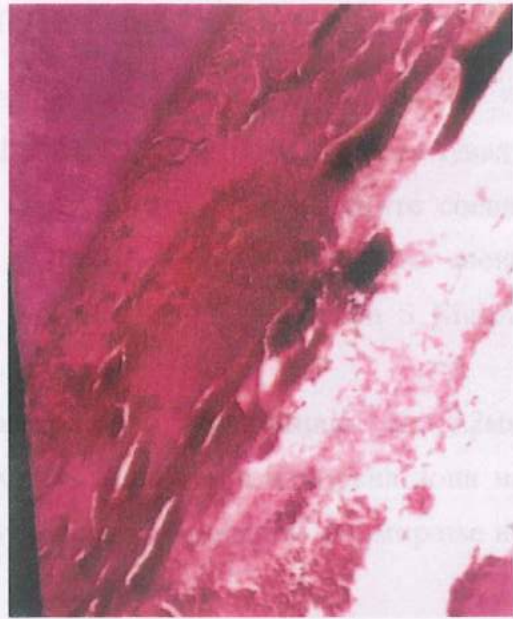
Слика 5. Триесет дена по апликација на Fuji IX. Нормална граградба на пулпа, тенденција за формирање на реактивен дентин(40x).



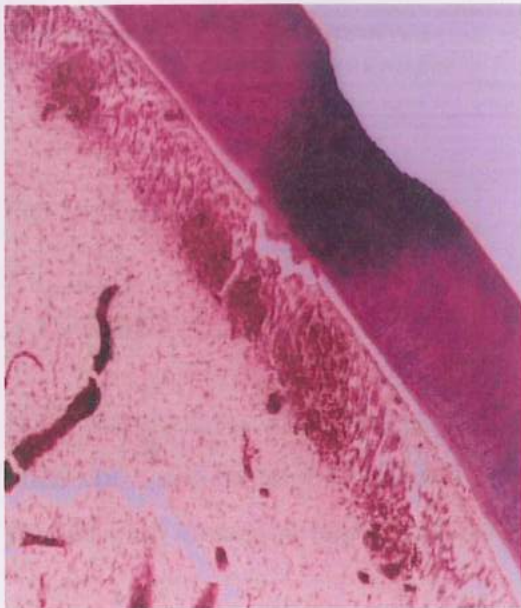
Слика 6. Седум дена по реставрација со G Bond. Присуство на умерена лимфоцитарна инфилтрација, дисрупција и дезорганизација на одонтобласти(100 x).



Слика 7. Триесет дена по реставрација со G Bond. Нормална градба на пулпата(100x).



Слика 8. Седум дена по реставрација со Prime&Bond. Интензивна реакција на пулпното ткиво со изразена хиперимија на крвните садови (100x).



Слика 9. Триесет дена по апликација на Prime&Bond. Блага дисрупција во слојот на одонтобласти со присутно крварење на поедини места(100x).

Директно по апликација на адитиви	Индикаторно резултат
1,2	0,0
1,9	0,0
1,4	0,0
0,3	0,0

РЕЗУЛТАТИ ОД МИКРОБИОЛОШКИТЕ ИСПИТУВАЊА

Резултатите од микробиолошките испитувања се прикажани на табела 7.

Три од испитуваните материјали (Fuji LLC, Fuji IX и G Bond) го спречуваат растот на *S mutans* кога се аплицираат директно на инокулираните соеви, додека P&B не покажа антиминобно делување кон испитуваните соеви микроорганизми (слика 10). Зоната на инхибиција на растот на *S Mutans* изнесува 9мм.

По апликација на дентин најголема зона на инхибиција од 8,2мм продуцираше Fuji Lining LC. Кај Fuji IX и G Bond беше измерена зона на инхибиција од 7,9 и 7,8мм, додека кај P&B не беше забележано формирање на зона на инхибиција(слика 11).

Табела 7. Средна вредности на зоната на инхибиција (мм) на *S mutans* продуцирана од ресинсвривниот материјал по 24 часа

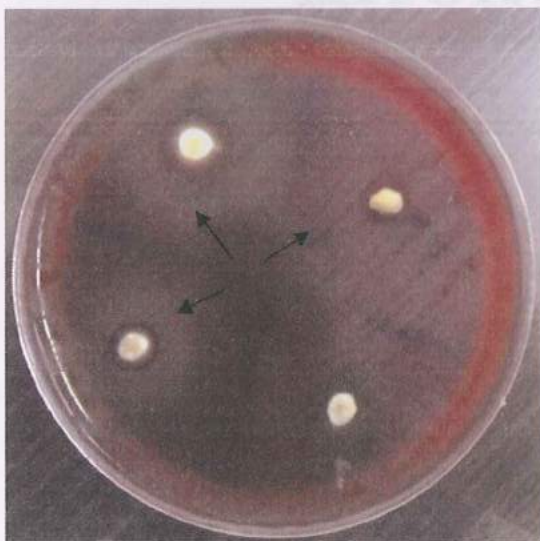
Испитуван материал	Директна апликација	Директно по апликација на дентин	Индицирно преку дентин
Fuji Lining LC	9,2	8,2	0,0
Fuji IX	9,2	7,9	0,0
G Bond	9,1	7,8	0,0
Prime&Bond	0,0	0,0	0,0

При индицирна апликација на испитуваните материјали преку дентински дискови , кај ниен примерок немаше формирано зона на инхибиција на растот на *S mutans* за период од 24 часа(слика 12).

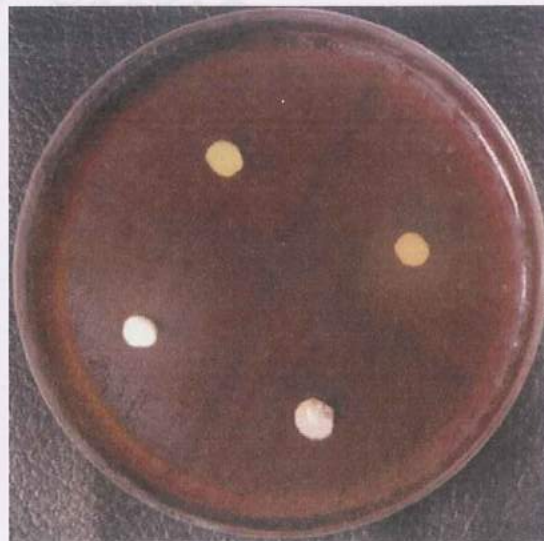


Слика 10. Директна апликација на инокулирани соеви. Формирање на зона на инхибиција на растот на *S. Мутанс*.

ДИСКУСИЈА



Слика 11. По апликација на дентин.



Слика 12. Индиректно, преку дентински дискови со дебелина од 0,5мм. Нема формирање на зона на инхибиција.

ДИСКУСИЈА

ДИСКУСИЈА

Забите можеме да ги карактеризираме како комплексни структури составени од различно минерализирани ткива кои се во состојба на непрекината размена на материи со оралната средина. Овој динамичен процес вклучува јони и молекули од забните структури и саливата, но и конституенси од бактерискиот плак и нивните метаболички придукти вклучувајќи ги и киселините.

Дисбалансот во размената на јони помеѓу минерализираните дентални ткива и оралната средина, особено кога е предизвикан со бактерискиот метаболизам на шеќери и пад на рН на средината, може да предизвика појава како на примарен така и на секундарен кариес. Научниците се во постојана потрага по изнаоѓање на средства, реставративни техники и дентални материјали кои ќе обезбедат долготрајност на реставрацијата и ќе ја спречат појавата на секундарен кариес. Денеска со сигурност се знае дека флуорот е еден од елементите кој има влијание на овие процеси, со тоа што може да ја успори деминерализацијата, но и да го стимулира и забрза процесот на реминерализација на тврдите забни ткива.

Силикатните цементи се првите реставративни материјали кои содржат и ослободуваат флуор. Нивната способност да ја спречат или успорат појавата на секундарен кариес и покрај нивните ограничени физички особини и слабата адхезивна способност го насочило вниманието на научниците кон изнаоѓање и развој на нови реставративни материјали кои имаат капацитет да ослободуваат флуориди. Во седумдесетите години од минатиот век за прв пат на пазарот се појавиле глас јономер цементите, материјали од групата на ацидобензи цементите, наменети за различни апликации.

Во наредните неколку години овие цементи биле усовршувани. Со додавање на смолеста компонента се добиени смолесто модифицираните глас јономер цементи, кои се светлосно полимеризирачки, со што се скратува времето на врзување и се намалува осетливоста на влага.

Покрај глас јономер цементите денеска среќаваме голем број на композити и адхезиви кои во својот состав содржат флуориди. Различните дентални

материјали ослободуваат различна количина на флуор во околната средина.¹⁰⁸

Флуорот ослободен од материјалот за реставрација, како и флуорот присутен во саливата, заедно со калциумовите и фосфатните јони се вградува во деминерализираниот емајл. При тоа се формира кристална емајлова структура која содржи повеќе флуориди, а помалку карбонати и е порезистентна на делувањето на киселини.^{28,61}

Donly и соработниците во своите истражувања дошле до заклучок дека флуорот што се ослободува од реставративниот материјал се инкорпорира во соседните забни структури и делува инхибиторно на процесот на деминерализација на ивиците од реставрацијата.²⁶

Една од целите во ова истражување ни беше да го оредиме реминерализациониот потенцијал на четири реставративни материјали. Испитувањето го правевме на дентин, бидејќи реставративните материјали кои ги испитувавме се аплицираат директно на дентин. Сензитивноста на дентинот е поголема споредено со таа на емајлот, дентинот е поосетлив на дејството на киселини, деминерализира побрзо од емајлот, а и процесот на реминерализација се одвива побрзо.

Во првот дел од испитувањето ја одредувавме количината на инкорпориран флуор и калциум кај делумно деминерализиран дентин по реставрирање на примероците со два глас јономер цементи и два дентин адхезиви и апликација на истите во раствор за реминерализација. Мерењето на количината на инкорпориран флуор го правевме за период од три и десет недели.

Резултатите добиени во ова истражување покажуваат дека кај различни групи количината на инкорпориран флуор е различна.

Кај примероците испитувани три недели по апликацијата на реставративниот материјал, количината на инкорпориран флуор беше поголема кај примероците третирани со глас јономер цемент споредено со групите заби каде аплициравме дентин адхезив. Најголема пенетрација на флуор од 0,214

$\mu\text{g}/\text{mg}$ забележавме кај групата заби реставрирани со Fuji IX (конвенционален ГЈЦ), следуваа примероците тетирани со смолесто модифициран глас јономер цемент Fuji Lining LC каде количината на инкорпориран флуор изнесуваше $0,165 \mu\text{g}/\text{mg}$, додека пак кај групата заби реставрирани со G bond разликата во концентрацијата на флуор помеѓу испитуваната и контролната група изнесуваше $0,039 \mu\text{g}/\text{mg}$ и беше статистички незначајна. Интересен е податокот дека кај примероците каде аплициравме Prime&Bond дентин атхезив кој содржи флуор количината на инкорпориран флуор беше значително помала споредено со примероците реставрирани со глас-јономер цемент и изнесуваше $0,099 \mu\text{g}/\text{mg}$.

Разликите во количината на вграден флуор во дентин меѓу примероците третирани со глас-јономер цемент и дентин атхезив се должат на тоа што ГЈЦ се аплицира во поголема количина во кавитетот и како резултат на тоа ослободува поголема количина на флуориди. Бондот кој содржи флуор и покрај тоа што е во течна состојба и може полесно да пенетрира во дентинот, се аплицира во тенок слој кој се полимеризира, а со тоа се редуцира континуираното ослободување на флуориди.

Дека дел од флуорот што се ослободува од реставративниот материјал се инкорпорира во околните забни структури говорат и испитувањата на Liv Skartveit. Во своето ин витро истражувањето овие истражувачи дошле до заклучок дека за период од десет дена концентрацијата на флуор во дентин кај примероците третирани со глас јономер цемент се зголемила од 1,2 на 3,8 проценти, додека ка примероците третирани со флуориран амалгам од 0,6 на 0,9 проценти. Длабочината на пенетрација кај групата третирана со глас јономер цемент изнесувала 220-750 μm , а кај амалгамот од 110-550 μm .⁷⁴

Количината на инкорпориран флуор во дентин зависи и од количината на флуор што се ослободува од реставративниот материјал. До таков заклучок дошле Extercate и соработниците, испитувајќи го влијанието на конвенционален и смолесто модифициран глас јономер цемент врз артефициелна дентинска лезија. Тие констатирале дека количината на инкорпориран флуор во дентин по апликација на конвенционален глас

јономер цемент за период од една недела е значително поголема во споредба со смолесто модифицираниот ГЈЦ. Според истите автори, количината на инкорпориран флуор е пропорционална со количината на флуорот што се ослободува од материјалот за одреден временски период и е различна за различни реставративни материјали.³⁰

Исто така и Франси го испитувал ослободувањето на флуор од различни реставративни материјали (два глас-јономер цемента, два композити и два дентин атхезиви) во дејонизирана вода за период од 24 часа. Резултатите од нивното истражување покажуваат дека Fuji Bond LC ослободува најголема количина на флуориде 31,5 μg , потоа следува Fuji IX 18,1 μg и Fuji LC 12,3 μg кога се испитува ослободувањето на флуориди од самиот материјал. Испитувајќи го влијанието на овие материјали на процесот на деминерализација на околниот дентин, дошле до сознание дека кај примероците реставрирани со Fuji IX и Fuji II LC се забележува најмало ослободување на јони на калциум, додека пак примероците реставрирани со Fuji Bond LC покажуваат најголемо ослободување на јони на калциум. По апликација на дентин, најголема количина на ослободен флуор била забележана кај примероците реставрирани со Fuji IX, конвенционален глас јономер цемент, Fuji II LC покажува ослободување на помала количина на флуор, додека пак Fuji Bond LC е на трето место по измерената количина на ослободени флуориди. Според овие автори разликите во ослободувањето на флуор кај овие материјали пред и по апликација на дентин се должат на фактот дека Fuji Bond LC се аплицира во тенок слој на дентинот што не случај со другите два материјали.³⁴

Во нашето истражување добивме дека кај примероците третирани со Fuji IX количината на вграден флуор е значително поголема, споредено со примероците третирани со Fuji Lining LC. Ова е разбирливо ако се земе во предвид дека Fuji IX е конвенционален глас јономер цемент, а од истражувањата на другите автори може да видиме дека како таков

ослободува поголема количина на флуориди споредено со смолесто модифицираните глас јономер цементи каков што е Fuji Lining LC.

Спротивно на резултатите од нашите испитувања, истражувањата на Tsanidis покажуваат дека не постои статистички значајна разлика во количината на инкорпориран флуор во дентинот меѓу двата испитувани глас јономер цементи за период од седум дена. Сепак оваа разлика е статички значајна споредено со контролните примероците. Количината на инкорпориран флуор е различна за различни слоеви од дентинот и следствено на тоа е најголема кај првиот слој со дебелина од 10 μ m, а како се оддалечуваме од контактот со ГЈЦ количината на инкорпориран флуор се намалува.¹²⁶

Според Kawai за да се обезбеди вградување на значителна количина на флуор во дентинот, која може да обезбеди кариостатско делување, потребно е реставративниот материјал да ослободува исто така поголема количина на флуориди.⁶⁴

Количината на флуор што се ослободува од реставративниот материјал е различна во различен временски период од апликацијата.

Attar и соработниците ја испитувале динамиката на ослободување на флуориди, од пет различни реставративни материјали и дошле до заклучок дека количината на ослободен флуор кај сите испитувани материјали е најголема во првите дваесет и четири часа, за во наредниот период да дојде до нејзино нагло опаѓање. Кај сите испитувани реставративни материјали е забележано континуирано ослободување на ниски дози на флуориди за период од 60 дена.⁴

Истите автори укажуваат на податокот дека најголема количина на флуор за целиот период на истражувањето се ослободува од конвенционалниот глас јономер цемент, компомерот ослободува помала количина на флуориди, додека од композитот била ослободена најмала количина на флуор.⁴

Резултатите прикажани од Donly пак покажуваат дека количината на флуор ослободена од смолесто модифицираните глас јономер цементи евалуирани

во нивната студија е најголема во иницијалната фаза, за по десет дена да се намали за 75-80% со тенденција на постојано опаѓање.²⁶

Овие сознанија се потврдени и со резултатите прикажани од Carey и соработниците. Според овие истражувачи количината на ослободен флуор од испитуваниот глас јономер цемент е најголема до 10 часа по врзувањето кога доаѓа до негово нагло опаѓање. Истите автори дошле до заклучок дека количината на ослободен флуор од ГЈЦ е во директна корелација со рН на средината, т.е. со намалување на рН се иницира ослободување на поголема количина на флуор.¹²

Потврда за континуираното ослободување на флуор во текот на подолг временски период од некои реставративни материјали, кој потоа се вградува во тврдите забни супстанции говорат и истражувањата на GroWesenberg. Во своето ин витро истражување овие автори дошле до заклучок дека за период од 30 дена количината на флуор што се инкорпорира во слојот на дентин што е во непосреден контакт со реставрацијата изнесува 1,5%, со тенденција на опаѓање до 0,1% на оддалеченост од 16-80 μ m од површината. Истите автори укажуваат на податокот дека количината на инкорпориран флуор во дентинот е побрза и поголема споредено со таа во емајлот што најверојатно се должи на структурата на дентинот како послабо минерализирано ткиво споредено со емајлот.⁴¹

Во нашето истражување АНОВА тестот за нумерички обележја на набљудување покажа дека постои високо-статистички значајна разлика во количината на инкорпориран флуор во дентин, 10 недели по апликацијата на реставративниот материјал, споредно со контролните групи.

Најголемо инкорпорирање на флуор и овој пат забележавме кај примероците третирани со глас јономер цемент со тоа што не постоеше статистички значајна разлика во количината на инкорпориран флуор во дентин помеѓу Fuji IX и Fuji Lining LC (0,273 и 0,278 μ g/mg). За разлика од нив кај G-Bond групата забележавме најмало (0,110 μ g/mg), статистички незначајно покачување на флуорот споредено со контролните групи. Кај четвртата група на заби третирани со Prime&Bond порастот на

концентрацијата на флуор во дентинот беше статистички значајно и изнесуваше 0,13 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Количината на инкорпориран флуор кај примероците од G-Bond и Prime&Bond групата не се разликуваа статистички значајно меѓу себе.

Направените студентови т-тестови за два врзани примероци покажаа дека кај сите испитувани реставративни материјали постои статистички високо значајна разлика во количината на инкорпориран флуор за период од 3 и 10 недели, т.е. количината на инкорпориран флуор 10 недели по апликацијата е за 40 до 70% повисока споредена со количината измерена за 3 недели.

Испитувајќи ја динамиката на вградување на флуор во дентинот по апликација на два различни глас јономери, за период од 1,7,14 и 30 дена, Tsanidis дошол до заклучок дека количината на инкорпориран флуор од првиот до триесетиот ден од апликацијата се зголемува двојно. Споредувајќи ја количината на инкорпориран флуор помеѓу двата глас јономер цементи, заклучил дека и покрај малите разлики, ефектот на двата реставративни материјали не се разликува статистички сигнификантно.¹²⁶

Едно од својствата на материјалите кои ослободуваат флуор е да го спречат и забават процесот на деминерализација. Ин витро испитувањата на Sis Darendeliler покажуваат дека глас јономер цементите имаат најголем инхибиторен ефект на формирањето на кариозна лезија споредено со компомерите и композитните смоли.¹¹⁴

Francsi и соработниците сметаат дека декалцификацијата на дентинот и емајлот е помала само кај групите реставрирани со смолесто модифициран и конвенционален глас јономер цемент, кога истите се подложат на кариогени влијанија. Нивните сознанија се дека ниеден од испитуваните материјали (композит, бонд кој содржи флуор и нефлуориран бонд), освен глас јономер цементите, не ослободуваат доволно флуор кој ќе го афектира метаболизмот на *S mutans*.³⁴

MLG Pin пак смета дека ниеден од испитуваните материјали (композит, компомер, конвенционален и смолестомодифициран ГЈЦ) не може во целост да ја спречи појавата на процесот на деминерализација непосредно до

реставрацијата. Затоа вниманието на истражувачите треба да биде насочено кон испитување на реминерализационите потенцијали на реставративните материјали.⁸⁸

За реминерализациониот ефект на флуор ослободувачките реставративни материјали говорат истражувањата на повеќе автори.^{31,51,95,99}

Според испитувањата на Exterkate флуоридите ослободени од глас јономер цементот заедно со калциумовите и фосфатни јони кои дифундираат од пулпална страна, може да резултира во зголемена минерализација на деминерализиран дентин што е во непосреден контакт со ГЈЦ. Резултатите од нивното истражување покажуваат дека не постои статистички значајна разлика во количината на вграден калциум помеѓу смолесто модифицираниот и конвенционалниот ГЈЦ.³⁰

Истражувањата на Hotta покажуваат дека зголемена минерализација настанува само кај реставративните материјали кои ослободуваат поголема количина на флуор како што се глас јономер цементите. Материјалите кои ослободуваат мала количина на флуор, како флуор ослободувачки композити, не може да иницираат процес на реминерализација. Длабочината на минерализација на дентинот ,за период од 30 дена, според овие автори изнесува 20µм.⁵²

Спротивно на овие ставови, Tomiоaga смета дека и покрај малата, статистички несигнификантна разлика во степенот на реминерализација помеѓу испитуваните реставративни материјали(ГЈЦ, Флуор ослободувачки композит и композит кој не ослободува флуор), сепак постои разлика во профилот на реминерализацијата помеѓу глас јономер цементот и композитот. Имено кај композитниот материјал, површинскиот слој и телото на лезијата реминерализираат бавно, додека кај ГЈЦ се забележува реминерализација на површинскиот слој додека телото на лезијата е изоставено.¹²²

J.M. ten Cate ја испитувал реминерализацијата на кариозна лезија екстендирана во дентин, третирана со универзален бонд кој не содржи флуор и апликација на примероците во реминерализационен раствор. Наодите од

нивното испитување покажуваат дека во присуство на калциумови и фосфатни јони, може да настане повторна минерализација на кариозна лезија во дентин и емајл. Процентот на минерализација на дентинот за период од 200 дена изнесува од 60-100%, а за емајл околу 40%. Присуството на јони на флуор во околината, според овие истражувачи, корелира позитивно со процесот на реминерализација, што се потврди и со резултатите прикажани во нашата студија.⁶⁰

Во нашето истражување ја испитувавме и депозицијата на калциумови јони во дентинот по реставрација со Fuji IX, Fuji lining LC, G-Bond и Prime&Bond, за период од три и десет недели.

Анова тестот за нумерички обележја покажа дека постои статистички високо сигнификантна разлика во концентрацијата на калциумот во дентин помеѓу контролните и испитуваните групи за сите реставративни материјали, за период од три недели. Најголема депозиција на калциумови јони во дентин беше забележана кај групите реставрирани со ГЛЦ и изнесуваше 1,95 $\mu\text{g}/\text{mg}$ за Fuji Lining LC и 1,99 $\mu\text{g}/\text{mg}$ за Fuji IX. Депозицијата на калциумови јони кај групите третирани со дентин адхезив беше значително пониска. Кај примероците реставрирани со G Bond изнесуваше 1,02 $\mu\text{g}/\text{mg}$, додека кај примероците реставрирани со Prime& Bond 1,21 $\mu\text{g}/\text{mg}$.

Разликата во количината на инкорпориран калциум во дентин помеѓу Fuji IX и Fuji Lining LC, како и меѓу G-Bond и Prime&Bond не беше статистички сигнификантна што е во согласност со резултатите прикажани од Exterkate.

Статистичката обработка на податоците за период од 10 недели покажа дека и тука постои статистички значајна разлика во концентрацијата на инкорпориран калциум меѓу испитуваните и контролните примероци за сите реставративни материјали. Најголема депозиција на калциум од 3,72 $\mu\text{g}/\text{mg}$ беше забележана кај групата реставрирана со Fuji IX, а најмала кај групата третирана со G-Bond и изнесуваше 2,06 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Просечните вредности на разликата во калциумот за период од 10 недели покажа дека не постои статистички сигнификантна разлика во количината на депониран калциум

меѓу примероците од групата на Fuji IX и Fuji Lining LC, како и меѓу примероците од групата на G-Bond и Prime&Bond.

Kitasako и соработниците ја испитувале промената на ширината на деминерализиран дентин, како и неговата наноцврстина, по апликација на Fuji IX и Fuji II LC, за период од 3, 90 и 360 дена. Добиените резултати покажуваат дека и кај двете испитувани групи процесот на реминерализација започнува уште третиот ден, што се забележува по намалување на ширината на деминерализираниот дентин, а забележителни промени во наноцврстината се забележуваат покасно, т.е. девесетиот ден од апликацијата. Истите автори укажуваат на податокот дека не постои статистички сигнификантна разлика во количината на инкорпориран калциум помеѓу испитуваните материјали за ист временски период.⁶⁸

Студентовиот т-тест за врзани примероци, направен врз основа на резултатите од нашето истражување покажа дека со исклучок на Fuji Lining LC, кај сите останати испитувани реставративни материјали постои статистички значајна разлика во количината на инкорпориран калциум меѓу групата од три и десет недели, што говори дека процесот на реминерализација е динамичен процес.

При споредба на количината на инкорпориран флуор, со количината на инкорпориран калциум во дентин кај секоја група одделно, добивме позитивна корелација за сите испитувани групи за двата временски интервали.

Просечните вредности на разликата во инкорпориран калциум кај групите на Fuji IX и Fuji Lining LC се разликуваат статистички значајно од вредностите добиени кај групите третирани со G-Bond и Prime&Bond за двата периода на испитување. Ако се земат во предвид резултатите од истражувањата на повеќе автори кои говорат дека флуорот што се ослободува од реставративниот материал може да го иницира и забрза процесот на реминерализација на дентинот разбирливо е зошто кај групите реставрирани со Fuji IX и Fuji Lining LC, кои покажаа значително поголемо инкорпорирање на флуор во дентин, забележавме поголемо, статистички значајно

зголемување и на концентрацијата на калциум, споредено со групите реставрирани со G-Bond и Prime&Bond.

Спротивно на резултатите прикажани во нашето испитување, Marczuk-Kolada не забележале покачување на нивото на калциум во тврдите забни ткива по апликација на Fuji IX.⁸⁰

Примената на новите материјали за реставрација, со нова хемиска структура, нагризувањето на дентинот, како и потребата да се обезбеди комплетна полимеризација и запечатување на кавитетот го наметнуваат прашањето за биолошката безбедност на новите материјали и техники.

Пулпното ткиво претставува добро организиран имун систем адаптиран на анатомските услови во кои се наоѓа. Според истражувањата на повеќе автори постојат две причини за појавата на инфламација на пулпното ткиво по реставративните процедури, а тоа се токсичноста на материјалот и бактериската инфекција.^{90,100}

Murray смета дека појавата на инфламаторна реакција на пулпното ткиво е во директна корелација со бактерискиот микропроток.⁹¹ Од друга страна пак инфламација на пулпното ткиво може да се забележи и кога нема бактериски микропроток, особено кога се аплицираат бондинг системи со ниска вискозност на дентин претходно кондициониран со киселина.

Уште 1991 година Hanks укажува на токсичноста на одредени компоненти на денталните смоли испитувани на фибробласти на глушец.⁴³

Подоцна Ratanasathien и соработниците го испитувале ефектот на симултана експозиција на клетки на неколку композитни смоли. Тие покажале дополнителен цитотоксичен ефект продуциран од НЕМА кога се користи како растворувач за BisGMA.¹⁰² НЕМА може да дифундира релативно брзо низ дентинот кога е во поголема концентрација и да предизвика цитотоксичен ефект.¹⁰

Испитувајќи го ефектот на различни видови глас јономер цементи врз култура на клетки повеќе истражувачи дошле до заклучок дека смоесто модифицираниот глас јономер цемент покажува појак цитотоксичен ефект, споредено со конвенционалните ГЈЦ.^{69,70} Huang и Chang, сметаат дека дентин бондинг агенсите се цитотоксични за хуманите пулпини клетки, аплицирани директно.⁵⁴

Резултатите од ин витро истражувањата според овие автори не кореспондираат секогаш со резултатите добиени во ин vivo услови.

Во ин vivo услови дентинот до одреден степен би можел да делува како бариера која го забавува и спречува продорот на токсични материи према пулпата. Понатаму пулпната циркулација ин vivo на некој начин врши испирање и ја намалува концентрацијата на цитотоксични агенси.

Во вториот дел од нашето истражување си поставивме за цел да го евалуираме одговорот на пулпното ткиво на заби кај Wistar стаорци по апликација на Fuji IX, Fuji Lining LC, G-Bond i Prime&Bond, за период од 7 и 30 дена. Wistar стаорците претставуваат добар модел за тестирање на биокompatibilноста на реставративните материјали што се потврдило во повеќе студии. Со оглед на разликите во големината на забите кај стаорците и луѓето, големината и длабочината на препарацијата во нашето истражување ја прилагодивме на големината на забите кај стаорците.

Критериуми за оценување на промените на пулпното ткиво ни беа прилагодени според ИСО стандардите, со ИСО 10993 документот кој ја установува евалуацијата на пулпиниот одговор со хистолошка анализа на пулпното ткиво кај експериментални животни по екстракција на реставрираниот заб. И покрај тоа што постојат и други методи за евалуација на биокompatibilноста на денталните материјали како што е доплер ласер, хистолошките методи остануваат најчесто користена метода, но во исто време и најрелевантна за докажување на инфламаторниот одговор на денталната пулпа. Според овие стандарди активноста на пулпините инфламаторни клетки може да се подели на четири категории (отсутна, лесна, умерена и изразена) базирајќи се на серија на критериуми на

оценување, кои до извесен степен зависат и од субјективноста на истражувачот.⁷⁹

Хистолошката анализа на препаратите во нашето истражување, кај групата од седум дена, покажа најизразени промени во слојот на одонтобластите кај забите реставрирани со Prime&Bond. Промените кај сите заби од оваа група беа од умерен карактер. Кај забите каде аплициравме G-Bond кај четири од примероците забележавме умерени промени, додека кај два примерока промените беа слабо изразени. Анализата на хистолошките препарати кај забите реставрирани со Fuji IX и Fuji Lining LC покажа дека кај сите испитувани примероци се забележуваат само благи промени во слојот на одонтобласти локализирани во околина на препарацијата, без значајна разлика помеѓу двете групи, што оди во контекст на сознанијата на Mousavinasab кој смета дека глас јономер цементите не предизвикуваат значајни промени во слојот на одонтобласти.⁸⁹

Giantanzoroulou исто така го застапува ставот дека реакцијата на пулпата при апликација на смолесто модифициран глас јономер цемент е минимална и компарабилна со таа на ZOE и на хемиски врзувачкиот ГЈЦ.³⁵

Кај групата заби третирани за период од 30 дена не забележавме статистички значајна разлика во слојот на одонтобласти кај сите испитувани материјали, т.е. кај повеќето од примероците не наидовме на промени во пулпното ткиво, со исклучок на групите на G-Bond и Prime&Bond каде само кај еден од примероците беше забележана блага дезорганизација и разретчување на слојот на одонтобласти.

Повеќе фактори имаат влијание на јачината на пулпиниот одговор: цититоксичноста на денталните материјали, начинот на апликација на реставративниот материјал како и присуството на бактерии. Покрај овие фактори возраста на пациентот и дебелината на преостанат дентин меѓу дното на препарацијата и пулпното ткиво играат важна улога во интензитетот на пулпиниот одговор и депозиција на терциерен дентин.^{98,118}

Хистолошката анализа на препаратите во нашата студија покажа дека инфламаторната реакција на пулпното ткиво е најизразена кај забите

третирано со Prime&Bond каде кај три од примероците имаше знаци на изразено воспаление, додека кај другите три примероци промените беа од умерен карактер. Ова е разбирливо ако се земе во предвид дека на апликацијата на бондот и претходеше нагризување на дентинот со 35% фосфорна киселина за времетраење од 10 секунди. Имено техниката на влажно бондирање во комбинација со зголемена дентинска пермеабилност како резултат на нагризување со фосфорна киселина може да го олесни продорот на неполимеризирани мономерии према пулпата и на тој начин да го потенцира нивниот токсичен ефект.¹³

При анализа на хистолошките препарати кај групата реставрирана со G-Bond забележавме благи до умерени инфламаторни промени на пулпното ткиво. Поголемата толерантност на пулпата кон овој адхезив може да е резултат на тоа што во својот состав не содржи НЕМА, мономер закој со сигурност се знае дека има тиксично делување врз клетките на пулпата. G Bond исто така е self etching дентин адхезив, кој е помалку агресивен споредено со фосфорната киселина и при нагова апликација настанува блага декалцификација на дентинот без експонираност на колагените влакна што резултира во помала пропустливост на истиот за неполимеризираните мономерии.

Интензитетот на реакцијата е во директна корелација со видот на реставративниот материјал и начинот на негова апликација.

Според Rueggeberg Margeson кај бондинг агенсите постои и ризик од некомплетна полимеризација.¹⁰⁷ Теоретски 100% конверзија на мономер во полимер е возможна, но во повеќето случаи од 25-50% од метакрилатниот мономер, двојноврзувачки, најчесто останува слободен во полимерот.^{5,62} Кај секој неполимеризиран мономер во композитот постои можност за дифузија према пулпата.⁵⁸

Потврда за резултатите прикажани во оваа студија се истражувањата на Meddina кој ја испитувал реакцијата на експонирана пулпа по апликација на седум адхезивни смоли компарирани со калциум хидроксид. Резултатите од овие истражувања покажуваат дека три од испитуваните материјали меѓу кои

е и Prime&Bond, предизвикуваат поизразена инфламаторна реакција на пулпното ткиво, која перзистира и за период од 90 дена, а во некои случаи може да премине и во некроза. Ако се земе во предвид дека кај повеќето од случаите не било забележано присуство на бактерии, постои причина да се верува дека за ваквата биолошки неприфатлива инфламаторна реакција на пулпата е одговорен хемискиот состав на овие адхезивни смоли.⁸⁴

До слични сознанија дошол и Carlos Sousa Costa испитувајќи ја реакцијата на пулпното ткиво на хумани заби по нагризување со киселина и апликација на бондинг агенс. Резултатите од неговото испитување покажуваат дека умерена воспалителна реакција на пулпното ткиво е најчеста кај забите каде е применета total etching техника на нагризување, додека кај забите каде е нагризуван само емајлот и кај забите каде е аплициран Dycal како подлога биле забележани само благи промени во пулпата. Според овие автори дебелината на дентинската бариера е исто така од големо значење за јачината на пулпиниот одговор, т.е. дебелина помала од 300µм не може да го превенира продорот на бондинг агенсите низ дентинските тубули.^{13,14}

Дека дентинот делува како бариера која го спречува продорот на токсични мономерни према пулпата говорат и резултатите добиени од истражувањата на повеќе истражувачи меѓу кои е и Schmalz. Врз основа резултатите од нивните истражувања може да се заклучи дека ниеден од испитуваните дентин бондинг агенси (All-bond 2, Prime& Bond NT, Syntac Single) со нозок pH не покажале цитотоксичен ефект на култури од пулпини клетки кога се аплицираат преку дентинска бариера со дебелина од 0,5 мм.¹¹⁰

Ако се земе во предвид дека во нашето истражување испитуваните дентин адхезиви ги аплициравме на дентин во кавитети со иста длабочина, може да кажеме дека разликите во одговорот на пулпата се должат делумно и на применетата техника на нагризување.

Спротивно на ставовите за улогата на реставративниот материјал врз појавата на пулпина реакција, некои истражувачи сметаат дека појавата на инфламаторна реакција на пулпното ткиво е во директна корелација со

бактерискиот микропроток.^{58,92} Inokoshi и соработниците дошле до сознание дека кај забите каде е забележано присуство на бактерии се јавува појака инфламаторна клеточна реакција на пулпното ткиво. Појавата на инфламаторна реакција на пулпата и во случаите каде не е забележано присуство на микроорганизми упатува на хемиската компонента од реставративниот материјал како можен предизвикувач на оваа реакција.⁵⁸ Миптау пак во своето ин виво истражување дошол до заклучок дека при примена на total etching техника на нагризување се јавува појака инфламаторна реакција на пулпното ткиво, а во некои случаи и некроза што се должи на олеснетиот продор на микроорганизми према пулпата. Инфламација и некроза на пулпата не била забележана кај кавитетите каде не е применета техниката на total etching и покрај високиот степен на бактериска контаминација што покажува дека присуството на размачканиот слој го превенира микропротокот на бактерии низ дентинските тубули према пулпата.⁹¹

Во нашето истражување кај сите испитувани реставративни материјали забележавме појава на воспалителна реакција од различен интензитет, во отсуство на бактерии, што не упатува на тоа дека причина за реакцијата на пулпата се одредени компоненти кои дифундираат од реставрацијата.

Најголема толеранција од пулпното ткиво во нашите испитувања покажа хистолошката анализа на забите реставрирани со глас јономер цементи. Не постоеше статистички значајна разлика во реакцијата на пулпата помеѓу Fuji IX како претставник на конвенционалните глас-јономер цементи и Fuji Lining LC од групата на глас-јономер цементи модифицирани со смола.

Повеќе ин витро и ин виво студии ја потврдуваат биолошката компатибилност на глас јономер цементите со пулпното ткиво.⁹⁶

До слични резултати од своите испитувања во ин виво услови дошле Mousavinasab и соработниците. Испитувајќи ја реакцијата на пулпното ткиво на хумани заби по апликација на смолесто модифициран, конвенционален глас јономер цемент и Dycal како контрола овие истражувачи дошле до

заклучок дека реакцијата на пулпното ткиво не се разликува значајно помеѓу испитуваните материјали за истиот временски период. Сите испитувани материјали во нивната студија покажале само блага до умерена реакција на пулпното ткиво без присуство на микроорганизми. Инфламаторната клеточна реакција за период од седум дена била значително поголема од реакцијата на пулпата кај групата од триесет дена, што е во согласност со резултатите прикажани во нашата студија.⁸⁹

Слаба до умерена реакција на пулпното ткиво на заби од стаорци по апликација на Fuji IX е забележана и во испитувањата на Six, што е потврда за прифатливата биокompatibilност на овие материјали.¹¹³

Според некои истражувачи една од причините за големата биолошка толерантност на пулпата кон глас-јономер цементите, споредено со другите реставративни материјали, покрај хемиската компонента е и добрата адхезија на ГЈЦ за забните структури со што се превенира појавата на бактериски микропроток.⁹²

При анализа на хистолошките препарати за период од 30 дена наидовме на нормална структура на пулпното ткиво кај сите примероци од сите испитувани материјали со исклучок на групите на Prime&Bond и G Bond каде кај еден од примероците забележавме само блага инфламаторна реакција на пулпата. Овие резултати покажуваат дека промените на пулпното ткиво што ги забележваме за период од седум дена се од реверзибилен карактер и по одреден временски период доаѓа до смирување на воспалителната реакција со воспоставување на нормалната градба и функција на пулпата. Ова делумно се должи и на поголемото иницијално ослободување на мономери, што ги прави реставративните материјали потоксични во раната фаза по апликацијата, а помалку токсични во подоцнежната фаза, како и на активирањето на репаративните и одбрамбени потенцијали на пулпата. Резултатите прикажани во нашата студија се во согласност со резултатите прикажани од повеќе истражувачи.^{14,113, 116}

Потврда на резултатите што ги добивме се и ин витро истражувањата на Bouillaget кои покажуваат дека Prime&Bond со и без флуор покажуваат цитотоксичен ефект аплицирани директно на култури на клетки во раната фаза по апликацијата, додека цитотоксичниот ефект на материјалот седум дена по апликацијата значително се намалува. Послабо цитотоксично делување е забележано при примената на смолесто модифициран глас-јономер цемент без примена на прајмер.^{9,10}

Денеска со сигурност се знае дека доброто маргинално запечатување го превенира продорот на микроорганизми према пулпата. Бактериите се наједноставниот биолошки показател за откривање на маргиналниот микропроток ин vivo. Во нашата студија не забележавме присуство на бактерии кај ниеден од испитуваните материјали, за двата временски периода, што укажува на податокот дека сите испитувани реставративни материјали обезбедуваат добро рабно затворање за двата временски интервали. Резултатите што ги добивме се во согласност со резултатите прикажани од повеќе истражувачи.^{92,113}

Sopoda смета дека испитуваните дентин адхезиви независно дали се едно или двокомпонентни обезбедуваат добро рабно затворање на кавитетот за период од 90 дена.¹¹⁶

Еден од параметрите за одредување на биолошката компатибилност на испитуваните реставративни материјали беше и формирањето на терциерен дентин.

Терциерниот дентин може да се класифицира како реактивен или репаративен. Генерално реактивниот дентин се излучува од примарни одонтобласти, додека репаративниот дентин се излучува од ново диференцираните odontoblast-like клетки. Двата механизми на депозиција на дентин зависат делумно од јачината на почетниот одговор и од условите под кои настанува депозицијата на дентинскиот матрикс.⁹⁸

Во нашето истражување анализата на хистолошките препарати покажа дека кај ниеден од испитуваните материјали нема формирање на терциерен

дентин за период од 7 дена, додека кај групата од 30 дена кај сите испитувани примероци забележавме тенденција за формирање на репаративен дентин. Со оглед на тоа што немаше статистички значајна разлика во депозицијата на репаративен дентин како помеѓу испитуваните реставративни материјали, така и со контролните примероци, можеме да кажеме дека овие материјали немаат ниту инхибиторно, ниту пак стимулативно влијание на регрутацијата на клетките, нивната синтетичка и секреторна активност. Тоа е прифатлив доказ дека одонтобластите или odontoblast-like клетките ги имаат зачувано сите нивни потенцијали за формирање на репаративен дентин и дека испитуваните реставративни материјали немаат влијание на оваа нивна функција.

Резултатите прикажани во нашата студија се во согласност со ставовите на Mousavinasab дека не постои значајна разлика во формирањето на реактивен дентин помеѓу испитуваните глас јономер цементи и Dycal, за ист временски период. Депозицијата на дентин за период од 30 дена била поголема кај сите испитувани материјали споредено со период од седум дена кога не било забележано формирање на реактивен дентин.⁸⁹

Mishra пак демонстрира дека постои обратно пропорционална релација меѓу дебелината на дентинската бариера и стимулација на реактивна дентиногенеза, со што ја поддржува теоријата дека молекуларниот стимул за реактивната дентиногенеза е ефектор молекул ослободен од ендогените фактори на раст што се содржат во дентинот.^{90,115} Оттука може да се заклучи дека со редуција на преостанатиот дентин кај длабоки кавитети може да се зголеми ослободувањето на фактори на раст кои пак може да ја стимулираат дентиногената активност на одонтобластите. Во нашето истражување сите кавитети беа релативно плитки, со приближно иста длабочина што може да е една од причинаите за малите разлики во депозицијата на дентин помеѓу испитуваните групи.

Спротивно на овие ставови Carlos Sousa Costa смета дека иритативните стимуланти што настануваат во тек на препарацијата се одговорни за иницијација на формирање на реактивен дентин. Овие ставови ги

потврдуваат со податокот дека формирање на реактивен дентин било забележано само кај два од примероците каде била забележана појака инфламаторна реакција.^{13,14}

Појавата на рекурентен кариес е исто така една од причините за менување на реставрацијата. Отстранувањето на кариозниот дентин е обично субјективно и главно се базира на конзистенцијата и бојата на дентинот. Овие едноставни критериуми во голем процент корелираат со микробиолошките наоди, т.е. и дисколорираниот и необоениот дентин содржат мала количина од микроорганизми што може да се оцени како минимално инфективна.⁷³

Сепак овие оптички и тактилни наоди не се соодветниот критериум за оценка на присуство или отсуство на бактерии во кавитетот. Истражувањата на повеќе автори покажуваат дека подлабоките слоеви од кавитетот и покрај контролата со кариес маркери сеуште содржат живи микроорганизми.^{1,73}

Boston и Graver даваат хистолошко објаснување дека кариес детекторот не ги елиминира комплетно шансите од преостанати микроорганизми во кавитетот.⁸

Размачканиот слој што се продуцира при препарацијата на кавитетот претставува 1-5 μ m тенок слој од денатуриран дебрис составен од дентин, неоргански материи и микроорганизми. Мислењата на научниците за тоа дали треба да се остави или отстрани овој слој се контроверзни и додека едни сметаат дека со отстранувањето на размачканиот слој се отстранува инфективниот материјал и се обезбедува подобра превенција од појава на микропроток на микроорганизми како главен предизвикувач на воспалителни промени на пулпата, други сметаат дека овој слој е солидна бариера за продорот на хемиските иританси кон пулпата.

Оттука се јавува потребата од аплицирање на реставративен материјал кој покрај добрата адхезија и биокompatibilност ќе има и бактерицидно влијание на преостанатите микроорганизми. Примената на материјали кои

содржат и ослободуваат флуор аплицирани директно на дентинот може да има влијание на преостанатите бактерии во дентинските тубули.⁴⁹ Покрај флуоридите се почесто се споменуваат и атхезиви кои не содржат флуор, а поседуваат антибактериски ефект. Според Imazato самите мономерни преку нискиот рН или пак преку адиција на антибактериски компоненти може да продуцираат антибактериски ефект. Некои од комерцијалните self etching прајмери имаат рН вредности доволно ниски да го растворот денталниот супстрат и да ги уништат или инактивираат преостанатите микроорганизми. По аплицирањето како се импрегнира во подлабоките слоеви од дентинот прајмерот се раствора, а со тоа неговиот антибактериски ефект се намалува.^{55,56}

Во третиот дел од ова студија го испитувавме антимикуробниот ефект на Fuji IX, Fuji Lining LC, G Bond и Prime& Bond со примена на агар дифузионата метода. Антимикуробната активност ја испитувавме врз *S mutans*, како бактериски сој кој игра посебно важна улога во појавата на кариесот, со мерење на дијаметарот на зоната на инхибиција продуцирана од секој од испитуваните материјали. Резултатите што ги добивме покажаа дека при директна апликација Fuji Lining LC, Fuji IX и G Bond продуцираат зона на инхибиција од 9мм. За разлика од нив кај Prime&Bond не забележавме антимикуробно делување, т.е овој материјал не продуцираше зона на инхибиција на растот на *S mutans*. При апликација на реставративниот материјал преку дентински диск со дебелина од 0,5мм ниеден од испитуваните материјали не продуцираше зона на инхибиција.

Слично на нашите истражувања и Воескh го испитувал антимикуробниот ефект на два глас јономер цементи, еден композит и компомер и дошол до заклучок дека сите испитувани реставративни материјали, со исклучок на композитот покажуваат антимикуробна активност кон *S mutans*, без меѓусебна статистички значајна разлика.⁶

Антибактериската активност на глас јономер цементите игра значајна улога во нивната се поголема примена во реставративната стоматологија собено при атрауматскиот реставративен третман. Повеќе истражувачи сметаат

дека флуорот што се ослободува од овие материјали во текот на подолг временски период е еден од факторите кој е одговорен за бактериостатскиот ефект на ГЈЦ, преу инхибиција на метаболизмот и растот на кариогените микроорганизми.^{249,98,104}

Marczuk-Kolada дошол до заклучок дека количината на ослободен флуор од компомерот е во директна позитивна корелација со инхибиција на растот на кариогените бактерии, т.е. најголема инхибиција на растот на микроорганизми е забележана седмиот ден по апликација на материјалот кога количината на ослободен флуор е најголема.⁸⁰

Според Francsi постои обратно пропорционална релација помеѓу количината на ослободен флуор од реставративниот материјал и степенот на деминерализација на соседниот дентин во присуство на *S mutans*. Истите автори сметаат дека флуорот ослободен од реставративниот материјал има влијание на отпорноста на дентинот кон деминерализација, но нема инхибиторно влијание на продукцијата на киселини од *S mutans*.³⁴

Kagan пак смета дека киселоста на глас јономер цементите е одговорна за антимикробната активност на овие материјали. Резултатите од нивната ин витро студија покажуваат дека полиакрилната киселина која е составен дел на глас јономер цементите има влијание на двата испитувани соеви на кариогени бактерии. Дијаметарот на зоната на инхибиција продуцирана од полиакрилната киселина била поголема за *Actinomyces viscosus* споредено со *S mutans*, што е резултат на поголемата отпорност на *S mutans* кон киселини.⁶³

Herrera и соработниците го испитувале антибактеискиот ефект на пет дентин адхезиви и седум глас јономер цементи и дошле до залучок дека Vitremer-смолесто модифициран глас јономер цемент покажува најголем антибактериски ефект, додека конвенционалните глас јономер цементи покажуваат само умерена антимикробна активност. Од испитуваните дентин адхезиви најголема антимикробна активност била забележана по апликација на Scotch bond, додека Prime&Bond не покажал билокаква антибактериска активност што ги потврдува резултатите прикажани во ова студија. Ако се земе во предвид дека и Vitremer и Scotch bond во својот состав содржат НЕМА

може да се залучи дека токму ова компонента е одговорна за антимикуробната активност на овие матријали.⁵⁰

Според Воескh антимикуробната активност на смолесто модифицираниот глас јономер цемент не е резултат на нискиот рН со оглед на фактот дека испитувањето на антимикуробниот ефект го правеле по врзување на цементот, туку е резултат на одредени компоненти како (флуор, НЕМА) кои се ослободуваат од овие ГЈЦ.⁶

Резултатите прикажани во студијата на Duque укажуваат на тоа дека сите испитувани глас јономер цемента покажуваат антимикуробна активност, преку инхибиција на растот на селектираните кариогени бактерии. Според овие автори антимикуробната активност на овие материјали може да е се должи на повеќе фактори: нискиот рН при врзување на материјалот, ослободувањето на флуориди или други компоненти (НЕМА) кои се составен дел на овие материјали. Полимеризацијата на смолесто модифицираниот глас јономер цемент ја редуцира неговата антимикуробна активност до ниво кое е сеуште задоволително.²⁷

Botelho пак смета дека глас јономер цементите воопшто не покажуваат антимикуробна активност кога се во врзана состојба.⁷

Новите атхезивни системи т.н. self etching прајмери вршат и кондиционирање и бондирање само со еднократна апликација. Во овие атхезивни системи, киселата компонента од прајмерот покрај тоа што врши деминерализација на дентинот го разградува и размачканиот слој и на некој начин го инкорпорира во хибридниот слој. Self etching атхезивите вршат само блага деминерализација на дентинот без експонирање на колагените влакна и без зголемена пермеабилност на дентинот и на некој начин овие системи овозможуваат дентинот да ги задржи своите нормални карактеристики. Инкорпорирањето на честички од размачканиот слој во хибридниот слој е еден од потенционалните недостатоци на овие системи ако се земе во предвид присуството на бактерии во размачканиот слој кој понатаму може да предизвика инфекција на пулпата. Оттука антибактерискиот потенцијал на овие атхезиви може да биде од особено значење.¹⁶

Испитувањат на Sehreli покажуваат дека сите испитувани self etching атхезивни системи поседуваат антибактериски потенцијал, кој е различен за различни соеви на микроорганизми. Антибактерискиот ефект на self etching прајмерот е значително поголем од ефект на бондот што укажува на влијанието на киселата компонента врз антибактериската активност на селф етчинг атхезивните системи.¹⁶

Во нашата студија G Bond како претставник на self etching атхезивите покажа способност да продуцира антибактериски ефект кон S mutans, со дијаметар на зона на инхибиција кој не се разликува статистички значајно од зоната продуцирана од глас јономер цементите. За разлика од нив Prime& Bond и покрај тоа што во својот состав содржи флуор не покажа антимикуробна активност кон испитуваните бактериски соеви што укажува на тоа дека покрај количината на ослободен флуор и киселата компонента има значење за бактериостатскиот потенцијал на реставративните материјали.

Резултатите прикажани во ова студија се потврда на резултатите прикажани од Schmalz кој исто така смета дека Prime&Bond не поседува инхибиторна активност кон S mutans независно дали содржи флуор или не, но покажува инхибиторна активност на растот на S Sobrinus.¹¹

Loyola и Rodrigez нашле дека S sobrinus е поосетлив на инхибиторната активност поврзана со ослободување на флуориди од реставративниот материал споредно со С мутанс и во тој контекст ефектот на флуорот како антибактериски агенс е ограничен.⁷⁶

Антимикуробната активност на реставративните материјали испитувана во ин витро услови не мора секогаш да корелира со бактериската инхибиција ин vivo.

Повеќе истражувачи забележале значителна колонизација со микроорганизми на површината на глас јономер цементната реставрација. Chin смета дека количината на флуориди што се ослободува од реставративниот материал е недоволна да ја спречи раната колонизација на денталниот плак со бактерии но сепак има влијание на нивната подоцнежна метаболичка активност.¹⁷ Pedrini пак укажува на рапавоста на површината на

реставрацијата како еден од факторите кој влијае на почетната колонизацијата на денталниот плак со микроорганизми.⁹⁸

Исто така одредени карактеристики на дентинот може да влијаат на антимикробната ефективност на реставративните материјали особено на дентин атхезивите. По аплицирањето како навлегува во подлабоките слоеви од дентинот прајмерот се раствора, а со тоа неговиот антибактериски ефект се намалува. Во нашето истражување не забележавме разлика во антибактерискиот потенцијал на испитуваните реставративни материјали по нивната апликација на дентин, т.е. дентинот нема влијание на површинската антибактериската активност на испитуваните материјали. Она што е значајно е дека при индиректна апликација преку дентин со дебелина од 0,5мм ниеден од испитуваните материјали не покажа инхибиторна активност кон *S mutans*. Овој податок ни говори дека испитуваните материјали имаат инхибиторно влијание на бактериите присутни на површината од дентинот на која го аплицираме, но нема антибактериско влијание на микроорганизмите преостанати во подлабоките слоеви од дентинот што ја доведува во прашање примената на овие материјали особено глас јономер цементите на кариозен дентин.

Длабочината на продорот на бондинг агенсите во дентин зависи и од нивната вискозност. Резултатите прикажани од Schmalz покажува дека Xeno CF II бонд со поголема вискозност не продуцира зона на инхибиција аплициран преку дентин со дебелина од 200 μ m, што не е случај со ABF прајмерот кој има помала вискозност. Истите автори укажуваат дека по полимеризација ниеден од испитуваните бондинг агенси не покажува бактериска инхибиторна активност, што значи дека нема продор на антибактериски супстанции низ дентинот во дадените експериментални услови.¹¹¹

ЗАКЛУЧОК

ЗАКЛУЧОК

Врз основа на резултатите прикажани во ова студија мижеме да заклучиме:

- Кај сите испитувани реставративни материјали со исклучок на G Bond се инкорпорира флуор во дентинот како за период од три така и за период од десет недели. Количината на инкорпориран флуор во дентин по апликација на Fuji IX, Fuji Lining LC I Prime&Bond, за период од десет недели, е значително поголема од количината на инкорпориран флуор за период од три недели, што сугерира дека овие материјали покажуваат континуирано ослободување на флуор за периодот на испитување.
- По апликација на Fuji IX и Fuji Lining LC количината на инкорпориран флуор во дентин е сигнификантно поголема од количината на флуор што се инкорпорира по аплицирање на Prime&Bond, што говори дека количината на инкорпориран флуор е во директна корелација како со количината на ослободен флуор од реставративниот материјал така и со количината на материјалот кој се аплицира на дентин.
- Сите испитувани реставративни материјали, и за период од 3 и за период од 10 недели, презентираат статистички сигнификантно зголемување на количината на инкорпориран калциум во дентин при апликација на примероците во раствор за реминерализација. За период од десет недели Fuji IX, Prime&Bond и G Bond иницираа инкорпорирање на поголема количина на калциум во дентин споредено со количината измерена за три недели. Кај примероците реставрирани со Fuji Lining LC не пости статистички значајна разлика во количината на инкорпориран калциум помеѓу двата периоди на испитување.

- Концентрацијата на инкорпориран калциум во дентин кај примероците реставрирани со Fuji IX и Fuji Lining LC е значително поголема од концентрацијата измерена кај примероците реставрирани со Prime&Bond и G Bond за двата периоди на испитување. Не постои статистички сигнификантна разлика во количината на инкорпориран калциум меѓу примероците од групата на Fuji IX и Fuji Lining LC, како и меѓу примероците од групата на G-Bond и Prime&Bond во двата периоди за испитување.

- Постои позитивна корелација помеѓу количината на инкорпориран флуор и количината на инкорпориран калциум и за период од три и за период од десет недели од што значи дека флуорот што се ослободува од реставративниот материјал и се вградува во дентинот има влијание на процесот на реминерализација на дентин.

- Сите испитувани реставративни материјали делуваат иритативно на пулпата во првите седум дена од апликацијата. Најголема толеранција од пулпното ткиво покажа хистолошката анализа на забите реставрирани со глас јономер цементите Fuji IX и Fuji Lining LC, додека Prime&Bond и G Bond покажаа поголем токсичен ефект.

- По период од триесет дена кај ниеден од испитуваните примероци не забележавме присуство на воспалителни промени на пулпата што сугерира дека промените на пулпното ткиво предизвикани со апликација на реставративните материјали се реверзбилни.

- Сите испитувани реставративни материјали обезбедуваат добро рабно затварање без присуство на бактериски микропроток за период од седум и триесет дена.

- Испитувањата во однос на формирање на репаративен дентин за период од триесет дена покажаа дека нема статистички значајна разлика помеѓу испитуваните реставративни материјали и контролните примероци, што значи дека овие материјали немаат ниту инхибиторно, ниту пак стимулативно влијание на регрутацијата на клетките, нивната синтетичка и секреторна активност.
- Микробиолошките испитувања покажаа дека Fuji IX, Fuji Lining LC и G Bond имаат инхибиторно влијание на растот на *S mutans* при директен контакт со нив, додека Prime&Bond не покажа антибактериска активност.
- Ниеден од испитуваните материјали не покажа инхибиторна активност кон растот на *S mutans* аплицирани индиректно преку дентински дискови со дебелина од 0,5мм.
- Од резултатите од микробиолошките испитувања можеме да заклучиме дека Fuji IX, Fuji Lining LC и G Bond имаат инхибиторно влијание на бактериите присутни на површината од дентинот на која го аплицираме, но нема антибактериско влијание на микроорганизмите преостанати во подлабоките слоеви од дентинот.

БИБЛИОГРАФИЈА

1. Anderson Mh., Loeshe WJ., Charbeneau GT. Bacteriologic study of a basic fuchsin caries-disclosing dye. *Journal of Prosthetic Dentistry* 1985; 54:51-55.
2. Apostolska S., Odzaklievska S., Cekovska Z. The Influence of Restorative Materials on the Microorganisms in Carious Dentin. *Balk J Stom*, 2005;9:35-39.
3. Asmussen E (1982). Factors affecting the quantity of remaining double bonds in restorative resin polymers. *Scand J Dent Res* 90:490-496.
4. Attar N., Onen A. Fluoride release and uptake characteristics of aesthetic restorative materials. *Journal of oral rehabilitation* 2002; 29: 791-798.
5. Bergenholtz G (2000). Evidence for bacterial caustation of adverse pulpal responses in resin based dental restorations. *Crit Rev Oral Biol Med* 11:467-480. (Abstract).
6. Boeckh C., Schumacher E., Podbielski A., Haller B. Antibacterial Activity of Restorative Dental Biomaterials in vitro. *Caries Res* 2002;36:101-107.
7. Botelho G.M., Inhibitory Effect on Selected Oral Bacteria of Antibacterial Agents Incorporated in a Glass Ionomer Cement. *Caries Res* 2003;37:108-114.
8. Boston DW, Graver HT. Histological study of an acid red caries- disclosing dye. *Operative dentistry* 14:186-192(1989).
9. Bouillaguet S, Wataha JC, Hanks CT, Ciucchi B, Holz J. In vitro cytotoxicity of resin reinforced glass ionomer cements. *Acta Med Dent Helv*, vol.4:1/ 1999.

10. Bouillaguet S. Biological risks of resin-based materials to dentin-pulp complex. *Crit Rev Oral Biol Med*, 15(1):47-60, 2004.
11. Brannstrom M (1981). *Dentin and pulp in restorative dentistry*. Nacka Sweden): Dental Therapeutics.
12. Carey C.M., Spenser M., Gove R.J., Eichmiller F.C. Fluoride release from a resin-modified glass-ionomer cement in a continuous-flow system: effect of pH. *J Dent Res* 82(10):829-832; 2003.
13. Carlos Alberto de Souza Costa, Alexandre Batista Lopez, Hilcia Mezzalira Teixeira. Response of human pulps following acid conditioning and application of a bonding agent in deep cavities. *Dental Materials* 18(2002)543-551.
14. Carlos Alberto de Souza Costa, Hilcia Mezzalira Teixeira, Alexandre batista Lopez, Josimeri Hebling. Biocompatibility of Resin based Dental materials Applied as Liners in Deep Cavities Prepared in Human Teeth. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*; 2006, 175-184.
15. Castelnovo J, Tjan ahl, Liu P. Microleakage of multi- step and simplified- step bonding systems. *American Journal of Dentistry* 1990; 2: 114-116.
16. Cehreli Z C., Atac AS., Sener B. Antimicrobial Properties of Self-Etching Primer-Bonding Systems. *Operative Dentistry*, 2003, 28-2,143-148.
17. Chin Y.H. Marvyn, Busscher J. Henk, Evans Robert, Noar Joseph, Pratten Jonathan. Early biofilm formation and the effects of antimicrobiaj agents on orthodontic bonding materials in parallel plate flow chamber. *European Journal of Orthodontics* 28(2006) 1-7.

18. C. van Loveren, J. F. Bulis, J. M. ten Cate. The effect of triclosan toothpaste on enamel demineralization model. *Journal of antimicrobial chemotherapy* 2000, 45, 153-158.
19. Consiglio R., rengo S., Liguoro D., Riccitiello F., Formisano S., Palumbo G., Di jeso B. (1998) Inhibition by glass-ionomer cements of protein synthesis by human gingival fibroblasts in continuous culture. *Arhives of oral biology* 43(1)65-71.
20. Corry A., Millet T., Creanor S.L., Foye R. H., Gilmour W. H. Effect of fluoride exposure on cariostatic potential of orthodontic bonding agents: an in vitro evaluation. *Journal of Orthodontics*, Vol.30, No.4, 323-329, December 2003.
21. Dijkman G., Arends J. Secondary caries in situ around fluoride releasing light-curing composites: A quantitative model investigation on four materials with a fluoride content between 0 and 26 vol%. *Caries Res* 1992; 26:351-357.
22. Dijkman Ge., De Vries J., Arends J. Secondary caries in dentine around composites: a Wavelength-independent microradiographical study. *Caries Research* 1994 28:87-93.
23. Dionysopoulos P., Kotsanos N., Pagadogiannis Y., Kostantinidis A. Artificial secondary caries around two new F-containing restoratives. *Operative Dentistry* 1998; 23:81-86.
24. D.T. Zero, J.Z. Zang, D.S. Harper, S. Kely, J. Waksow, M. Hoffman. The remineralizing effect of an essential oil fluoride mouthrinse in an intraoral caries test. *J Am Dent Assoc*, Vol 135, No 2, 231-237, 2004.

25. Do Nascimento Ab., Fontana UF., Teixeira HM., Costa CA(2000). Biocompatibility of resin-modified glass-ionomer cement applied as pulp capping in human teeth. *American Journal of Dentistry* 13(1) 28-34.
26. Donly K J., Segura A. Clinical performance and caries inhibition of resin-modified glass ionomer cement and amalgam restorations. *J Am Dent Assoc* 1999;130:1459-1466.
27. Duque C, Negrini T C., Hebling J., Spolidorio DMP. Inhibitory Activity of Glass-ionomer Cements on Cariogenic Bacteria. *Operative Dentistry*, 2005, 30-5, 636-640.
28. Edmond R., Hewlett, Graham J. Glass ionomers in contemporary restorative dentistry-A clinical update June 2003 *Journal of the California Dental Association*, 1-16.
29. Ekenback SB, Linder LE, Lonnie H. Effect of four dental varnishes on the colonization of cariogenic bacteria on exposed sound root surfaces. *Caries Res* 2000 Jan-Feb; 34(1):70-4.
30. Exterkate R.A.M, Damen J.J.M., ten Cate J.M. Effect of fluoride-Releasing Filling Materials on Underlying Dentinal Lesions in vitro. *Caries Res* 2005; 39:509-513.
31. Featherstone JD. Fluoride, remineralization and root caries. *American Journal of Dentistry* 1994; 7:271-274.
32. Featherstone JD. Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride. *Community Dent Oral Epidemiol* 1999; 27:31-4.
33. Forsten L., Fluoride release and uptake by glass-ionomers and related materials and its clinical effect. *Biomaterials*. 1998 Mar; 19(6):503-8.

34. Francci C., Deaton T.G., Arnold R.R., Swift E.J.,Perdigao J., Bawden J.W. Fluoride release from restorative materials and its effect on dentin demineralization. *J Dent Res* 78(10):1647-1654, October, 1999.
35. Gaintantzopoulou MD, Willis GP, Kafrawy Ah. Pulp reactions to light-cured glass ionomer cements. *Am J Dent* 1994; 7(1): 39-42.
36. GeurtsenW Substances released from dental resin composites and glass ionomer cements. *Eur J Oral Sci* 1998; 106:687-695.
37. GeurtsenW. Biocompatibility of Resin modified Filling Materials. *Crit Rev Oral Biol Med* 11(3):333-355, 2000.
38. Ghavamnasiri M., Mousavinasab M., Mohtasham N. A Histopatologic Study on Pulp Response to Glass ionomer cements in Human Teeth. *Journal of Dentistry, Teheran, Iran* 2005; Vol:2, No.4:135-141.
39. Glasspoole EA., Erickson RL., Davidson CL. Demineralization of enamel in relation to the fluoride release of materials. *Am J Dent.* 2001 Feb; 14(1):8-12.
40. Guida A., Towler M.R., Wall J.G., Hill R.G., Eramo S. Preliminary work on the antibacterial effect of strontium in glass ionomer cements. *Journal of materials science letters* 22, 2003, 1401 – 1403.
41. Gro Wesenberg, Einar Hals. The in vitro effect of a glass ionomer cement on dentin and enamel wals. *Journal of Oral Rehabilitation*, 1980, Vol 7; 35-42.
42. Hamilton IR. Biochemocal effects of fluoride on oral bacteria. *J Dent Res* 1990; 69 (special issue):660-7.
43. Hanks CT, Strawn Se, Wataha JC, Craig R G (1991). Cytotoxicicy of resin components on cultured mammalian fibroblasts. *J Dent Res* 70:1450-1455.

44. Hara AT., Celso S Queiroz, Patricia M Freitas, Marcelo Giannini, Monica C. Serra, Jaime A Cury. Fluoride release and secondary caries inhibition by adhesive systems on root dentine. *European Journal of Oral Sciences*, Vol113 Iss3:245, Jun 2005.
45. Hara A.T., Turssi C.P., Ando M., Gonzalez-Cabezas., Zero D.T Rodrigues A. L., Serra M.C., Cury J.A. Influence of fluoride releasing restorative material on root dentine secondary caries in situ. *Car Res* 2006;40:435-439.
46. Harold R. Stanley. Local and systemic Responses to dental Composites and Glass Ionomers. *Adv Dent Res* 6:55-64, September, 1992.
47. Hatibovic-Kofman S, Suljak JP, Kogh G. Remineralization of natural carious lesions with a glass ionomer cement. *Swed Dent J.* 1997; 21(1-2); 11-7.
48. Harper D.S., Loesche W.J. Inhibition of acid production from oral bacteria by Fluorapatite- derived Fluoride. *J Dent Res* 65(1):30-33, January, 1986.
49. Hayacibara M.F., Rosa O.P.S., Koo H., Torres S.A., Costa B. Effect of fluoride and aluminium from ionomeric materials on *S mutans* biofilm. *J Dent Res* 82(4):267-271, 2003.
50. Herrera M., Castillo A., Bravo M., Liebana J., Carrion P. Antibacterial Activity of Resin Adhesives, Glass Ionomer and Resin Modified and a Compomer in Contact with Dentin Caries Samples. *Operative Dentistry*, 2000, 25:265-269.
51. Hicks J., Garcia- Godoy F., Flaitz C. Biological factors in dental caries: role of remineralisation and fluoride in dynamic process of demineralization and remineralization. *J Clin Pesiatr Dent.* 2004 28(3):203-214.
52. Hotta M, Li Y, Sekine I. Mineralization in bovine dentin adjacent to glass-ionomer restorations. *J Dent* 2001; 29:211-215.

53. Hume WR, Gerzina T M (1996). Bioavailability of components of resin-based materials which are applied to teeth. *Crit Rev Oral Biol Med* 7:172-179.
54. Huang F.M., Chang Y.C. Cytotoxicity of dentine-bonding agents on human pulp cells in vitro. *International Endodontics Journal*, 2002, 35; 905-909.
55. Imazato S., Ebisu S., Tarumi H., Kinomoto Y., Takeshige F. Development of antibacterial adhesive system: efficacy of new self-etching primer containing antibacterial monomer. *Advanced Adhesive Dentistry 3rd International Kuraray Symposium* December 1999.
56. Imazato S, McCabe JF, Tarumi H, Ehara A, Ebisu S(2001). Degree of conversion of composites measured by DTA and FTIR. *Dent Mater* 17:178-183.
57. Ingram G.S, Silverstone L. A Chemical and Histological Study of Artificial Caries in Human Dental Enamel in vitro. *Caries Res.* 15;393-398(1981).
58. Inokoshi S., Iwaku M., Fusayama T. Pulpal response to a New Adhesive Restorative Resin. *J Dent Res* 61(8): 1014-1019, August 1982.
59. Јанкуловска М. Флуоридите во промоција на оралното здравје. *Македонски стоматолошки преглед* 2006; 30 (3-4): 303-309.
60. J.M.ten Cate. Remineralisation of Caries Lesions Extending into Dentin. *J Dent Res* 80(5):1407-1411, 2001.
61. JohnHicks, DDS, MS, PhD, Md;Franklin Garcia-Godoy, DDS, MS; Kevin Donly, DDS, MS; and Catherine Flait, DDS, MS. Fluoride-Releasing Restorative Materials and Secondary Caries. *Journal of the California Dental Association* (2003).

62. Julide Zen, Arzu Atay, Fulya Toksoytop.U, Ali Uûur Ural, Mehmet Dalkiz, Yaşar Meri Tunca. Analysis of the Cytotoxicity of Four Dentin Bonding Agents on Gingival Fibroblasts. Turk J Med Sci, 35 (2005) 395-399.
63. Kagan Gökçe, Yasemin Benderli. Antimicrobial action of various polyacrylic acids on streptococcus mutans and actinomyces viscosus. OHDMBSC-2003, 2(4);42-46.
64. Kawai K., Heaven T J., Retief DH (1997). In vitro dentin fluoride uptake from three fluoride-containing composites and their acid resistance. Journal of dentistry 25:291-6.
65. K.C.Kan, L.B. Messer, H.H. Messer. Variability in Cytotoxicity and Fluoride Release of Resin-modified Glass-ionomer Cements. J Dent Res 76(8):1502-1507, August, 1997.
66. Kevin J Donly, Adriana Segura. Fluoride release and caries inhibition associated with a resin-modified glass-ionomer cement at varying fluoride loading doses. American Journal of dentistry 2002 Feb;15(1):8-10.
67. Kidd EAM, Ricketts DNJ, Beighton D (1996). Criteria for caries removal at the enamel-dentine junction: a clinical and microbiological study. British Dental Journal 180:287-291.
68. Kitasako Y, Arakawa M, Sonoda H, Tagami J(1999). Light and scanning electron microscopy of the inner surfaces of resins used in direct pulp capping. American Journal of Dentistry 12(5)217-221.
69. Lan WH., Lan WC., Wang TM., Lee YL., Tsweng WY., Lin CP Chang MC., Jeng JH.. Cytotoxicity of Conventional and Modified Glass Ionomer Cements. Operative Dentistry, 2003, 28-3, 251-259.

70. Leyhausen G., Abtahi M., Karbakhh M., Sapotnick A., Geurtsen W. Biocompatibility of various light-curingg and one conventional glass-ionomer cement. *Biomaterials* 19(1998):559-564.
71. Li YH, Bowden GH (1994). The effect of envirimental pH and fluoride from the substratum on the development of biofilm selected oral bacteria. *Journal of dental research* 74(9):1607-1612.
72. Linlin Han, Cruz Edward, A Comparative Study of Fluoride-releasing Adhesive Resin Materials. *Dental Materials Journal* 21(1);9-19, 2002.
73. List G., Lommel TJ., Tilk M., Murdoch Hg. Use of a dye in caries identification. *Quintessence International* (1987); 18:343-345.
74. Liv Skarttveit, Anne B Tveit, Rosane Ovrebo, Magne Raadal. In vivo fluoride uptake in enamel and dentin from fluoride- containing materials. *Journal of Dentistry for Children* march-april 1990:97-100.
75. Lobo M M., Pecharki GD., Tengan C., da Silva DD, Tagliaferro E.P.S., Napimoga MH. Fluoride- releasing capacity and cariostatic effect provided by sealants. *Journal of Oral Science*, vol47, No1, 35-41, 2005.
76. Loyola-Rodriguez,JP., Garcia-Godoy F. (1996). Antibacterial activity of fluoride release sealants on mutans streptococci. *Journal of Clinical Pediatric dentistry*. 20:109-11.
77. Luiz Carlos Santiago; Luiz Fernando Pegoraro; Alberto Cosnolaro; Accacio Lins Do Valle; Gerson Bonfante. Microscopic evaluation of the human dental pulp after full crown cementation with resin cement. *Cienc Odontol Bras*, Vol 5, No 3, set/dec.2002.

78. Manuel Toledano, Raquel Osorio. Surface characteristic and bacterial attachment on resin based dental materials. *Advanced Adhesive Dentistry*, 3rd International Kuraray Symposium, 3-4 December 1999 Granada.
79. Manoela H., Mogoanta L., Margaritescu V. deva., Petra Surlin, Caraivan O. Immunohistochemical aspects of the evaluation of the inflammatory answer of dental pulp. *Romanian Journal of Morphology and embryology* 2009, 50(2): 207-212.
80. Marczuk-Kolada G., Waszkei D., Luczaj-Cepowicz E., Kierklo A., Pawinska M., Mystkowska J. The effect of glass ionomer cement Fuji IX on the hard tissues of teeth treated by sparing methods (ART and CMCR). *Advances in Medical Sciences* 2006, Vol. 51, Suppl1; 138-141.
81. Marczuk-Kolada, Luczaj-Cepowicz, Waszkiel, Szarmach, Jakoniuk, Mystkowska Fluoride release and antibacterial properties of Dyract AP. *Research report Fluoride* 42(2)147-151, April-June 2009.
82. Margolis H.C., Moreno E.C., Murphy B.J. Effect of low levels of fluoride in solution on enamel demineralization (in vitro). *J Dent Res* 65(1); 23-29, January, 1986.
83. Матовска Јб. Кариологија. Скопје: Сигмапрес, 2001.
84. Medina VO., Shinkai K., Shirono M., Tanak N., Katoh Y. Histopathologic study on pulp response to single-bottle and self-etching adhesive systems. *Operative Dentistry*, 2002, 27,330-342.
85. Milton Fernando De A. Silva, Martin S. Ginger, Yun Zhang, William Devizio. The effect of a triclosan/copolymer/ fluoride liquid dentifrice on interproximal enamel

- remineralisation and fluoride uptake. *J Am Dent Assoc*, Vol135, No 7, 1023-1029, 2004.
86. Mjor IA., Nordahl I., Tronstad L (1991). Glass ionomer cements and dental pulp. *Endodontics & Dental Traumatology* 7(2)59-64.
87. Muller J., Horz W., Bruckner G., Kraft E. (1990). An experimental study on the biocompatibility of lining cements based on glass ionomer as compared with calcium hydroxide. *Dental Materials* 6(1) 35-40.
88. MLG Pin, RCC Abdo, MAAM Machado, SMB da Silva, A Pavarini, SN Marta. In Vitro Evaluation of the Cariostatic Action of Esthetic Restorative Materials in Bovine Teeth Under Severe Cariogenic Challenge. *Operative Dentistry*, 2005, 30-3,368-375.
89. Mousavinasab M, M. Sadegh Namazikhah, Nasrin Sarabi, Hassan Hosienpour Jajarm, Maryam Bidar. Histopatological Study on Pulp Response to Glass Ionomers in Human Teeth. *CDA Journal* vol.36, No1; 51-55, 2008.
90. Murray E.P., Imad About, Jean - Claude Franquin, Mireille Remusat, Anthony J. Smith. Restorative pulpal and repair responses. *J Am Dent Assoc*, Vol 132, No 4, 482-491. 2001.
91. Murray E.P., Smyth W.T., About I., Remusat R., Franquin J C., Smit JA. The effect of etching on bacterial microleakage of an adhesive composite restoration. *Journal of Dentistry* 30(2002); 29-36.
92. Murray E P, Abeer A hafezb, Anthony J Sith, Charles F Cox Bacterial microleakage and pulp inflammation associated with various restorative materials. *Dental Materials*, vol.18, issue 6:470-478, 2002.

93. Nicholson JW., Croll TP. Glass-ionomer cements in restorative dentistry. *Quintessence Int.* 1997 Nov; 28(11):705-14.
94. Noda M, Wataha JC, Lockwood PE, Volkman KR, Kaga M, Sano H(2003). Sublethal, 2-week exposures of dental material components alter TNF-alpha secretion of THP-1 monocytes. *Dent Mater* 19:101-105.
95. Olfat E. Hassanein and T.A. El-Brolosy. An Investigation about the Remineralization Potential of Bio-active glass on Artificially Carious Enamel and Dentin using Raman Spectroscopy. *Egypt. J. Solids*, Vol. (29), No. (1), 2006.
96. Oliva A., Della Ragione F., Salerno A., Riccio V., Tartaro G., Cozzolono A. Biocompatibility studies on glass ionomer cements by primary cultures of human osteoblasts. *Biomaterials*, 1996 Jul; 17(13):1351-6.
97. Pashley Dh & Carvalho R M (1997). Dentin permeability and dentin adhesion. *Journal of Dentistry* 25(5) 355-372.
98. Pedrini D, Gaetti-Jadrim Junior E, de Vasconcelos AC. Retention of oral microorganisms on conventional and resin-modified glass-ionomer cements. *Pesqui Odontol Bras.* 2001 Jul-Sep; 15(3): 196-200.
99. Petersson LG., Kambara M. Remineralisation study of artificial root caries lesions after fluoride treatment. An in vitro study using electric caries monitor and transversal micro-radiography. *Gerodontology*, 2004 Jun; 21(2):85-92.
100. Peutzfeldt A. Resin composites in dentistry: the monomer systems. *Eur J Oral Sci* 1997; 105:96-116.

101. Quinlan C.A., Zisterer D.M., Tipton K.F., Sullivan O.I. In vitro cytotoxicity of a composite resin and compomer. *International Endodontic Journal*, 2002, 35; 47-55.
102. Ratanasathien S, Wataha JC, Hanks CT, Dennison JB(1995) Cytotoxic interactive effects of dentin bonding components on mouse fibroblasts. *J Dent Res* 74:1602-1606.
103. Reeves G W., Fitchie JG., Hembree JH JR., Puckett AD. Microleakage of new dentin bonding systems using human and bovine teeth. *Operative Dentistry* 1995 20:230-235.
104. Renata C. da Silva, ACC Zuanon, DMP Spolidorio, JADB Campos. Antibacterial activity of four glass ionomer cements used in atraumatic restorative treatment. *J Mater Sci: Mater Med* (2007)18:1859-1862.
105. Ribeiro RA., Myaki SL., Gioso MA., Araujo NS. Pulpal response of dogs primary teeth to an adhesive system or to a calcium hydroxide cement. *Pesqui.Odontol. Bras.* Vol 14, No.1 Sao Paulo Jan/Mar. 2000.
106. Rochelle G. Lindemeyer, DMD. The Use of Glass Ionomer Sealants on Newly Erupting Permanent Molars. *JCDA*, March 2007, Vol. 73, No. 2.
107. Rueggeberg FA, Margeson D H(1990). The effect of oxygen inhibition on an unfilled/ filled composite system. *J Dent Res* 69:1652-1658.
108. Savarino L, Cervellati M, Stea S., Cavedagna D., Donati M.E., Pizzoferrato A., Visentin M. *In vitro* investigation of aluminum and fluoride release from compomers, conventional and resin-modified glass-ionomer cements: A standardized approach. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*, Vol. 11, No. 3, pp. 289-300 (2000).

109. Sasafuchi Y, Otsuki M, Inokoshi S, Tagami J (1999). The effects on pulp tissue of microleakage in resin composite restorations. *Journal of Medical and Dental Sciences* 46(4) 155-164.
110. Schmalz G., Schuster U., Koch A., Schweikl H. Cytotoxicity of low pH dentin-bonding agents in a dentin barrier test in vitro. *Journal of endodontics*, vol.28, No.3, March 2002.
111. Schmalz G., Ergucu Z., Hiller K. A. Effect of Dentin on the Antibacterial Activity of Dentin Bonding Agents. *Journal of Endodontics*, vol.30, No.5, May 2004.
112. Shimada Y., Seki Y., Uzzaman MA., Foxton RM., Tagami J. Effect of a fluoride releasing one step adhesive system on monkey pulpal tissue. *J Adhes Dent* 2005 Autumn; 7(3):241-5.
113. Six N, Lasfagues JJ, Goldberg M. In vivo study of the pulp reaction to FujiIX, a glass ionomer cement. *J Dent*. 2000 Aug; 28(6): 413-22.
114. Sis Darendeliler Yaman, Ozgur Er, Mehmet Yetmez, Gulden Alan Karabay. In vitro inhibition of caries-like lesions with fluoride-releasing materials. *J Oras Sci*, Vol46, No1, 45-50, 2004.
115. Smith Anthony J. Vitality of dentin-pulp complex in health and disease: Growth factors as key mediators. *Journal of Dental Education* . Volume 67, Number 6; 2003.
116. Sonoda H., Sasafuchi Y., Kitasako Y., Arakawa M., Otsuki M., Tagami J. Pulpal response to a fluoride releasing all-in-one resin bonding systems. *Oper Dent* 2002 May- Jun; 27(3):271-7.

117. Spahl W, Budzikiewicz H, Geurtsen W (1998). Determination of leachable components from four commercial dental composites by gas liquid chromatography/mass spectrometry. *J Dent* 26:137-145.
118. Stanley H R (1992). Local and systemic responses to dental composites and glass ionomers. *Adv. Dent Res.* 6:55-64, sept 1992.
119. Swartz ML, Phillips RW, Clark HE (1984) Long-term F release from glass ionomer cements. *Journal of Dental Research* 63(2)158-160.
120. Tam LE, Chan GP, Yim D. In vitro caries inhibition effects by conventional and resin modified glass ionomer restorations. *Oper Dent.* 1997 Jan- Feb: 22(1); 4-14.
121. Tarim B, Hafez AA, Cox CF. Pulpal response to a resin-modified glass-ionomer material on nonexposed and exposed monkey pulps. *Quintessence Int*, August 1, 1998; 29(8):535-542.
122. Tominaga Takatoshi, Mukai Yishiharu, Teranaka Toshio. Time-course study of Fluoride-Releasing Restorative Materials on Dentin Remineralisation and Following Acid Resistance in vitro. *Japan J Conserv Dent* 50(6) :808-817, 2007.
123. Torii Y., Itota T., Okamoto M., Nakabo S., Nagamine M., Inoue K. Inhibition of artificial secondary caries in root by fluoride-releasing restorative material. *Oper Dent* 2001 Jan-Feb; 26(1):36-43.
124. Toshiyuki Itoto, Mashiro Yoshiama. Effect of Fluoride-releasing Adhesives on Dentin. *J Hard Tissue Biology*, 2005:14(2), 147-8.
125. Torgay B.Y., Olmez S., Celik H., Cehreli Z. In vivo Evaluation of Effect Fluoride Varnish on Bacterial Colonization on Tooth Enamel using Scanning Microscopy. *Journal of IAS*, Vol.7, No1, 1994:1-5.

126. Tsandnidis V., Koulourides T. An in vitro model for Assessment of fluoride Uptake from Glass-ionomer Cements by Dentin and its Effect on Acid Resistance. *J Dent Res* 71(1):7-12, January, 1992.
127. Turner DF, Marfurt CF, Sattelberg C(1989). Demonstration of physiological barrier between pulpal odontoblasts and its perturbation following procedures: a horseradish peroxidase tracing study in the rat routine restorative. *J Dent Res*. 68:1262-1268.
128. Yamamoto K., Arai Koji., Fukazawa K., Fukui K., Nagamatsu K., Kato K., Nakagaki H., Robinson C. Effect of plaque fluoride released from a glass ionomer cement on enamel remineralisation in situ. *Caries Res* 2005; 39:157-160.
129. Yamamoto H., Y Iwami, T. Unezaki, Y Tomii, Y Tuchitani. Fluoride Uptake Around Caviti Walls; Two-Dimensional Mapping by Electron Probe Microanalysis. *Operative Dentistry*, 2000, 25, 104-112.
130. Y. Kitasako, M Nakajima, RM. Foxton, K Aoki, PRN Pereira, J Tagami. Physiologgical Remineralisation of Artificially Demineralized Dentin Beneath Glass Ionomer Cements With and Without Bacterial Contamination In Vivo. *Operative Dentistry*, 2003, 28-3, 274-280.
131. Zivkovic S., Konjevic G., Spuzic I. In Vitro Cytotoxicity of 5 Dentin Adhesive Systems. *Balk J Stom*, 2003; 7:21-26.