

Sveučilište u Zagrebu
Stomatološki fakultet u Zagrebu

Marija Kelić i Domagoj Kilić

ISPITIVANJE MOGUĆNOSTI PUNJENJA BIOAKTIVNIH
DENTALNIH MATERIJALA FLUORIDNIM IONIMA I NAKNADNOG
OTPUŠTANJA FLUORIDNIH IONA NAKON PREMAZIVANJA
VISOKOKONCENTRIRANIM FLUORIDNIM GELOM

Zagreb, 2022.

Ovaj je rad izrađen na Katedri za farmakologiju Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Kristine Peroš. Rad je nastavak prethodnog istraživanja "*Otpuštanje fluorida i promjena pH vrijednosti otopine tijekom imerzije bioaktivnih dentalnih materijala*" u sklopu znanstvenog projekta Hrvatske zaklade za znanost "*Biomimetički inteligentni kompozitni materijal*" (IP-2019-04-6183 , voditeljica projekta prof. dr. sc. Zrinka Tarle) i projekta "*Promjene svojstava sline kao dijagnostičke tekućine u dentalnoj medicini*" (Sveučilišne potpore istraživanjima, voditeljica projekta izv. prof. dr. sc. Kristina Peroš). Rad je predan na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2021./ 2022.

KRATICE

ADA- American Dental Association

ANOVA- Analysis of variance

FUJ-Fuji IX GP

FC- Fuji Coat LC

GB- G-aenial™ Bond

GIC- glass ionomer cement

HA - hidroksiapatit

ILM- ion- leaching materials

LED- light emitting diode

NaF- natrijev fluorid

PET- polietilen-tereftalat

rpm- rounds per minute

ppm- parts per million

TISAB- engl. *Total Ionic Strength Adjustment Buffer*

Sadržaj

1. UVOD	1
2. CILJEVI I HIPOTEZE RADA.....	4
3. MATERIJALI I METODE	5
4. REZULTATI.....	11
5. RASPRAVA.....	16
6. ZAKLJUČCI.....	22
7. ZAHVALE	23
8. POPIS LITERATURE.....	24
9. SAŽETAK	27
10. SUMMARY	29

1. UVOD

Topikalna se primjena fluorida danas smatra jednim od najboljih načina prevencije karijesa te presretanja i zaustavljanja karijesnog procesa. Ako su fluoridni ioni dostupni u oralnom miljeu tijekom pada pH vrijednosti usne šupljine, događa se proces precipitacije iona na površinu hidroksiapatitnih kristala, inhibirajući time proces demineralizacije i pomičući ravnotežu prema procesu remineralizacije otopljenih hidroksiapatitnih (HA) kristala (1).

Visokokoncentrirane otopine, gelovi i lakovi sadrže značajno veće koncentracije fluoridnih iona u usporedbi s preparatima za svakodnevnu oralnu higijenu. Koncentracije fluorida u njima mogu dosegnuti i vrijednosti od 22 500 ppm-a (*engl. parts per million*) (2). Upravo se zato preporuča ordinacijska primjena takvih preparata kod pacijenata s visokim rizikom za karijes (3). S obzirom na visoku koncentraciju fluoridnih iona navedena antikarijesna sredstva se koriste u malim količinama i tijekom jasno propisanog vremena. Prema preporukama Američke dentalne asocijacije (*engl. American Dental Association, ADA*), visokokoncentrirani bi se preparati fluora trebali aplicirati svakih 6 mjeseci da bi njihova primjena bila efikasna u smanjenju prevalencije karijesa visoko rizičnih pacijenata (2). Njihova upotreba ne bi smjela biti svakodnevna i učestala da ne bi došlo do neželjenih posljedica u vidu nastanka dentalne fluoroze (1).

Kariostatska aktivnost fluoridnih preparata varira tijekom vremena. Unutar 24 sata od miješanja staklenoionomernih cemenata primjetan je tzv. *burst effect* koji označava inicijalno otpuštanje velike količine iona. Nakon tog početnog skoka slijedi sporiji nastavak otpuštanja do uprosječivanja vrijednosti otpuštenih iona (4,5). Neke *in-vitro* studije su pokazale da je dugotrajno otpuštanje fluoridnih iona iz staklenoionomernih cemenata (SIC) prisutno nekoliko mjeseci, pa čak i do 3 godine (6,7). Da bi se produljilo vrijeme otpuštanja fluoridnih iona i time povećala antikarijesna sposobnost bioaktivnih dentalnih materijala, nužno je nanovo osigurati fluoridne ione i njima napuniti restaurativne materijale (*engl. recharge*) (8). Na taj se način osigurava novi koncentracijski gradijent fluoridnih iona te se omogućava ponovno otpuštanje iona (*engl. re-release*) iz bioaktivnih dentalnih materijala. Sposobnost materijala da djeluje kao rezervoar fluora ovisi o njihovoj permeabilnosti, sastavu, poroznosti i površinskoj energiji (8–10). Materijali koji su jako permeabilni mogu pohraniti ione fluora dublje

unutar svoje strukture dok nepermeabilni materijali fluoridne ione većinski adsorbiraju na svoju površinu (11).

Suvremena dentalna medicina postavlja pred restaurativne materijale visoke kriterije. Danas je osim poželjnog svojstva da bioaktivni dentalni materijal ima sposobnost otpuštanja iona, potrebno istražiti mogućnosti ponovnog punjenja restaurativnih materijala fluoridnim ionima. Nakon što je materijal iz svoje strukture otpustio određenu količinu iona, ako je izložen mediju obogaćenom fluoridnim ionima, on može te ione ponovno pohraniti (12). Važno je naglasiti da količina iona koju određeni materijal može primiti nije uvjetovana samo građom materijala i njegovom poroznošću, nego je ona i u korelaciji s vrstom preparata te koncentracijom fluoridnih iona kojima se taj materijal izlaže (9).

Različiti su načini na koje materijali mogu međudjelovati s ionima kojima su izloženi. Formiranjem slabih van der Waalsovih sila ostvaruje se fizička adsorpcija iona, osim toga ioni mogu biti kemijskom vezom povezani s površinom materijala. Često su ioni na površini materijala zadržani zbog istovremenog djelovanja oba načina vezanja (9). Da bismo razumjeli kako neki materijal može ponovno primiti ione, potrebno je opisati predložene mehanizme otpuštanja fluoridnih iona. Oslobođanje iona iz matriksa započinje izlaganjem čestica staklenog punila u kojem se nalaze fluoridni ioni poliakrilnoj kiselini tijekom reakcije vezanja cementa. Jedan od procesa naglašava proces brzog oslobađanja iona s površine u medij koji okružuje materijal. Drugi proces je sporiji i označava kontinuirano otpuštanje iona iz materijala procesom difuzije fluoridnih iona kroz pore i frakturne pukotine (4, 11).

Poznat je i proporcionalni odnos između količine iona koja je bila otpuštena tijekom inicijalnog otpuštanja i iona izmjerenih nakon tretiranja tih materijala sredstvima koja sadržavaju fluor. Materijali koji otpuštaju više iona, također će više iona moći primiti tijekom "recharge" tretmana (11,13–16).

Međutim, postoje radovi koji potvrđuju da materijali koji na početku nisu pokazali sposobnost otpuštanja iona, nakon tretmana su otpustili više iona u odnosu na neke staklenoionomerne materijale (17).

Od nekolicine provedenih *in vitro* studija koje mjere koncentraciju otpuštenih fluoridnih iona iz dentalnih restaurativnih materijala te mogućnost *recharge*-a tih istih uzoraka materijala po Preston i sur. dobivamo saznanja da svi ispitivani restaurativni dentalni

materijali iz njihovog istraživanja u određenoj mjeri mogu biti “napunjeni” fluoridnim ionima, međutim staklenoionomerni ili smolom modificirani staklenoionomerni cementi pokazuju veću vrijednost u smislu ponovnog otpuštanja fluoridnih iona u odnosu na kompozitne materijale (10).

Rai i sur. provode istraživanja ponovnog punjenja bioaktivnih materijala Cention N, Zirconomer te GC Gold Label 9 Extra pri čemu ukazuju da ovi noviji materijali imaju mogućnost otpuštanja fluoridnih iona čak do 12 mjeseci. Osim toga sva tri navedena materijala pokazuju mogućnost otpuštanja iona nakon topikalnog tretmana otopinom natrijevog fluorida (18) .

Dok starija istraživanja ukazuju na superiornost GIC-a (engl. glass ionomer cement) materijala u stupnju ponovne punjivosti ionima u odnosu na giomerne materijale poput Beautifill II (14), pojavom novijih materijala poput Centiona prema Rai. i sur. Cention N pokazuje veću mogućnost otpuštanja iona u odnosu na GIC (18).

Cilj ovog istraživanja je bioaktivne materijale iz skupine staklenoionomera, giomera i kompozita izložiti tretmanu fluoridnim gelom i izmjeriti količinu nanovo otpuštenih iona. Podaci o mogućnosti primanja i ponovnog otpuštanja iona intrigiraju i otvaraju pitanje kliničke važnosti topikalnog tretiranja takvih materijala korištenih za restaurativne ispune i važnosti stalne prisutnosti fluoridnih iona u miljeu usne šupljine osiguranih ovim tretmanom.

Pretraživanje suvremene literature ne pronalazi znanstveno istraživanje u kojem su korištene jednake skupine materijala Beautifil II, Cention, Fuji IX Extra usporedive starosti s našim uzorcima. Isto tako nije proveden ni tretman u istim uvjetima i s jednakim fluoridnim gelom kao što je to provedeno u ovom istraživanju. Stoga rezultati ovog istraživanja neće moći biti direktno uspoređivani s rezultatima ostalih *in vitro* istraživanja.

2. CILJEVI I HIPOTEZE RADA

Ciljevi ovog istraživanja su da se u razdoblju od 14 dana utvrdi:

1. postoji li mogućnost ponovnog punjenja (*recharge*) bioaktivnih dentalnih materijala fluoridnim ionima
2. postoji li mogućnost ponovnog otpuštanja (*re-release*) fluoridnih iona iz napunjenih bioaktivnih materijala
3. postoje li razlike u sposobnosti punjenja dentalnih bioaktivnih materijala s dentinskim adhezijskim sustavom i bez dentinskih adhezijskih sustava/ premaza
4. promjene vrijednosti mase uzoraka bioaktivnih materijala

Naša prva nul hipoteza je da ne postoji mogućnost punjenja fluoridnim ionima testiranih restaurativnih materijala.

Druga nul hipoteza je da svi ispitivani materijali nakon punjenja neće otpustiti jednaku količinu fluoridnih iona.

Osim toga, treća postavljena nul hipoteza kaže da nema statistički značajnih razlika u naknadnom otpuštanju fluoridnih iona između materijala koji su premazani ili nepremazani adhezijskim sustavom/ premazom.

Četvrta nul hipoteza kaže da nema promjena vrijednosti mase uzoraka bioaktivnih dentalnih materijala nakon tretmana fluoridnim gelom.

3. MATERIJALI I METODE

Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Stomatološkog fakulteta u Zagrebu (broj odobrenja: 05-PA-30-VI-3/2022.) i provedeno je na Katedri za farmakologiju Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu .

U istraživanju su ispitivana tri bioaktivna dentalna materijala: giomer Beautifil II (Shofu Dental GmbH, Ratingen, Njemačka) boje A2, alkasitni kompozitni materijal Cention (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) i konvencionalni SIC GC Fuji IX Extra (GC, Tokyo, Japan). Od adhezijskih sustava korišten je univerzalni adhezijski sustav u jednoj bočici G-aenial™ Bond (GC Europe, Leuven, Belgija). Rabljeni SIC premaz nalazi se pod imenom Fuji IX Coat GP (GC Europe, Leuven, Belgija).

Dvije skupine materijala podijeljene su svaka u dvije podskupine. Jednu podskupinu činili su uzorci polimeriziranih materijala koji nisu bili premazani adhezijskim sustavom dok su drugu podskupinu činili uzorci premazani univerzalnim adhezijskim sustavom G-aenial™ Bond (GB). Treću skupinu materijala činio je SIC materijal i ona je također podijeljena u dvije podskupine: prvu nepremazanu i drugu premazanu GC Fuji Coat-om LC (FC). U *Tablici 1.* shematski su navedene skupine i podskupine uzoraka navedenih materijala.

Svaka od spomenutih podskupina sadržavala je 6 uzoraka.

Tablica 1. Skupine materijala korištene u istraživanju i njihove podskupine					
BIOAKTIVNI DENTALNI MATERIJALI					
1. Beautifil II (n=12)		2. Cention (n=12)		3. Fuji IX Extra (n=12)	
1.1. Nepremazani uzorci (n=6)	1.2. Uzorci premazani i GB (n=6)	2.1. Nepremazan i uzorci (n=6)	2.2. Uzorci premazani GB (n=6)	3.1. Nepremaza ni uzorci (n=6)	3.2. Uzorci premaza ni GB (n=6)
n= broj; GB- dentinski adhezijski sustav G-aenial™ Bond					

36 uzoraka korištenih u ovom istraživanju staro je 25 mjeseci (od studenog 2019.). Uzorci su napravljeni kao dio istraživanja "*Otpuštanje fluorida i promjena pH vrijednosti otopine tijekom imerzije bioaktivnih dentalnih materijala*" pomoću teflonskih kalupa cilindričnog oblika s promjerom od 6 mm i visine 2 mm.

Uzorci kompozitnih materijala koji se stvrdnjavaju svjetlosnom polimerizacijom napravljeni su tako da se materijal unosi u kalup preko kojeg je obostrano stavljen sloj PET folije. Zatim su uzorci u vremenu od 20 sekundi s obje strane polimerizirani LED polimerizacijskim uređajem Bluephase G2 (Ivoclar Vivadent, Schaan, Lihtenštajn) nominalnog intenziteta 1200 mW/cm².

Uzorci SIC materijala stvrdnjavaju se kemijski - acidobaznom reakcijom u razdoblju od 6 minuta po uputi proizvođača u gore navedenim teflonskim kalupima.

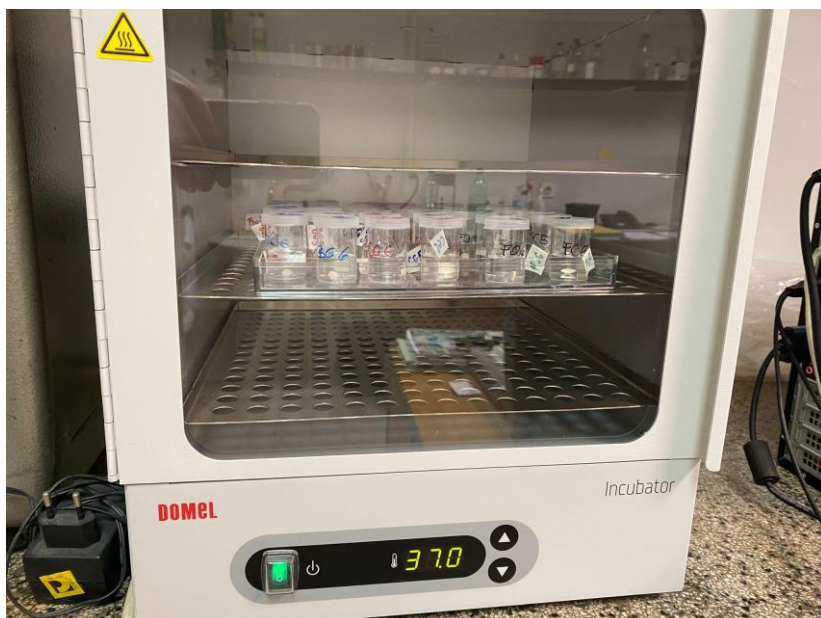
Nakon polimerizacije je podskupina uzoraka za koju je predviđen tretman adhezijskim sustavom bila premazana adhezijskim sustavom, ispuhana zrakom da bi otapalo isparilo i posvijetljena polimerizacijskom lampom u trajanju od 10 sekundi sa svih strana.

U svaki je uzorak, radi lakše manipulacije, umetnut plastični konac (uzorak visi na plastičnom koncu).

Do tretmana koncentriranim fluoridnim gelom (NaF od 12 300 ppm F⁻ (Miradent Mirafluor^r - gel) (*Hager & Werken GmbH & Co. KG, Duisburg, Germany*)), uzorci su bili pohranjeni u vlažnom mediju - polistirenskim čašicama (BRAND, Wertheim, Njemačka) koje su zabrtvljene poklopcem 25 mjeseci. Svaki je uzorak bio pohranjen u svojoj polistirenskoj čašici, a svaka je čašica bila označena flomasterom (Sanford L.P., Illinois, USA) rednim brojem uzorka i kraticom restaurativnog materijala na vanjskoj stijenci i na poklopcu čašice.

Prvog su dana istraživanja pohranjeni uzorci izvađeni iz polistirenskih bočica pa su izvagani. Mase uzoraka su mjerene pomoću laboratorijske vage (Analytical balance ABS-N/ABJ-NM, KERN, Balingen, Njemačka). Nakon što su mase izmjerene, svakom uzorku dodijeljena je zastavica s imenom uzorka pa je ponovljeno vaganje uzorka obilježenog zastavicom.

Potom su uzorci hidrirani. U prethodno opisane čašice pipetirano je 5 ml deionizirane vode (T.T.T., Sveta Nedelja, Hrvatska). Uzorci su postavljeni u čašice, zaklopljeni i stavljeni u inkubator (Domel, Železniki, Slovenija) na 37 °C tijekom 24 h.



Slika 1. Uzorci obilježeni zastavicama i postavljeni u inkubator

Nakon 24 h uzorci su izvađeni iz inkubatora, osušeni su i izmjerena je njihova masa. Tako hidrirani uzorci tretirani su koncentriranom otopinom fluorida (NaF od 12 300 ppm F^- (Miradent Mirafluor^r - gel (Hager & Werken GmbH & Co. KG, Duisburg, Germany))) tijekom 4 minute, a zatim su ispirani destiliranom vodom u razdoblju od 20 sekundi. U novoobilježene čašice je pipetirano 5 ml deionizirane vode (pipeta- Eppendorf, Hamburg, Njemačka). Uzorci su stavljeni u čašice i vraćeni u inkubator na temperaturu od 37 °C do sljedećeg dana.



Slika 2. Obilježene čašice za pohranu uzoraka



Slika 3. Priprema uzoraka za tretman Mirafluor gelom

Otpuštanje fluoridnih iona iz ovako tretiranih restaurativnih dentalnih materijala mjereno je u intervalu od 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 i 14 dana.

U svakom se navedenom intervalu s uzorcima postupalo na jednak način. Uzorci su izvađeni iz inkubatora (po isteku 24 sata), osušeni su papirnatim maramicama pa je njihova masa izmjerena.

Zatim su uzorci vraćeni u novopipetiranih 5 ml deionizirane vode i pohranjeni u novoobilježene čašice i vraćeni u inkubator na 37 °C do sljedećeg dana.

Iz 5 ml 24-satne otopine otpuštenih fluoridnih iona izdvojeno je 4,5 ml u kojih je dodano 0,5 ml puferne otopine (TISAB III; Thermo Fisher Scientific, Chelmsford, SAD). TISAB III puferna je otopina koja omogućava stabilnost svih aktivnih sastavnica otopine fluoridnih iona.

Količina fluoridnih iona koju su nakon topikalnog tretmana fluoridnim gelom otpustili bioaktivni dentalni materijali izmjerena je standardnom metodom pomoću ion selektivne elektrode Orion 9609BNWP (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, SAD). Propisana norma za određivanje iona fluora u tekućinama je ISO 19448:2018.



Slika 4. Mjerenje koncentracije fluoridnih iona ion selektivnom elektrodom

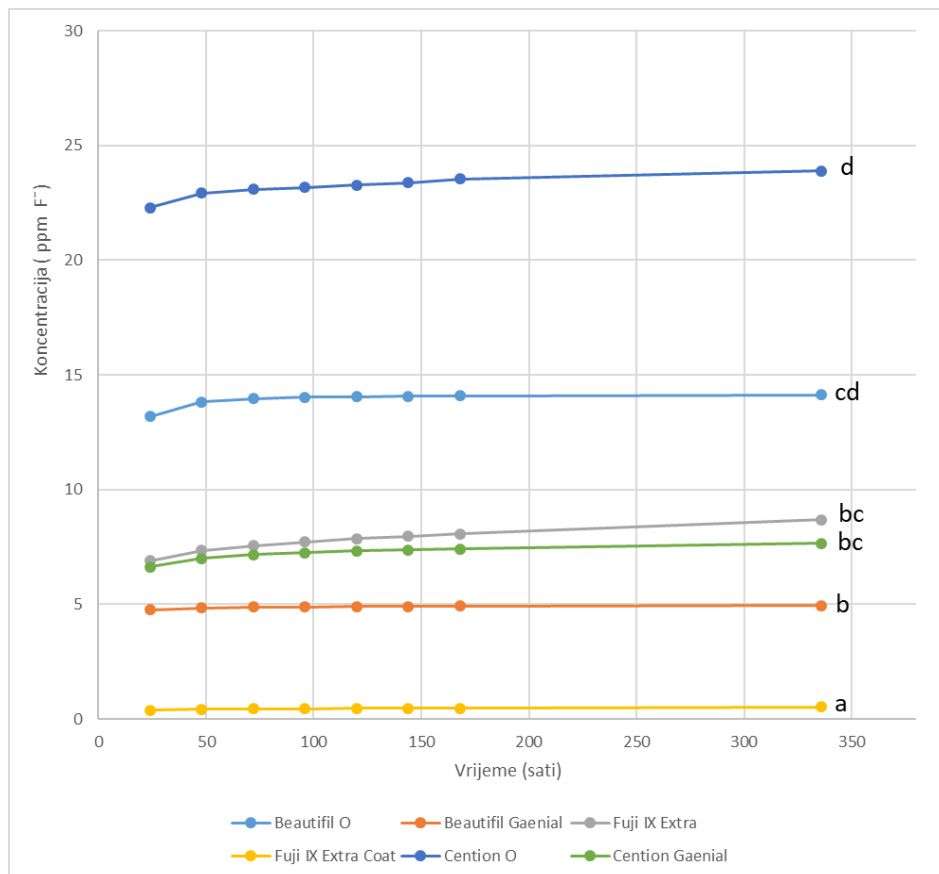
Prije samog mjerenja i tijekom mjerenja, nakon svakih 18 izmjerenih vrijednosti, ion selektivna elektroda je baždarena pomoću komercijalnih standarda s rasponom koncentracija od 10^{-5} - 10^{-2} mol/L F^{-} . Za vrijeme mjerenja koncentracije iona uzorak je postavljen na digitalnu magnetsku mješalicu RH digital (IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Njemačka). U uzorak postavljen na magnetskoj mješalici postavljen je senzor koji se vrtio brzinom od 500 rpm (engl. *rounds per minute*). Ion selektivna elektroda, spojena na čitač Expandable IonAnalyzer EA 940 (Orion Research, Beverly, SAD), uronjena je u prethodno pripremljen uzorak otopine. Nakon što se na čitaču prikazala vrijednost "ready" bile su očitane vrijednosti. Za svaki uzorak očitavane su po 3 prikazane vrijednosti iz kojih se računala srednja vrijednost koncentracije fluoridnih iona za mjereni uzorak. Nakon svakog mjerenja elektroda se održavala tako da je senzor izvađen i ispran u destiliranoj vodi i osušen papirnatim ručnicima (TM- Horeca, Ljubljana, Slovenija). Na isti način ion selektivna elektroda isprana je destiliranom vodom i posušena.

Statistička obrada rezultata

Kumulativne koncentracije otpuštenih fluoridnih iona tijekom 14 dana su uspoređivane Kruskal- Wallis one-way ANOVA-om pomoću Dunn's post-hoc analize. S obzirom na nenormalnost distribucije podataka, koja je provjerena Shapiro Wilk testom, usporedbe među pojedinim vremenskim točkama obrađene su pomoću Friedmanova ANOVA testa post-hoc Dunn-ovom analizom. Promjena mase je obrađena Friedmanovim i Wilcoxonovim testom. Rezultati se smatraju statistički značajnim na razini značajnosti od 0,05. Analiza je provedena korištenjem softverskog paketa SPSS 20 (IBM, Armonk, NY, SAD).

4. REZULTATI

Kumulativne koncentracije otpuštenih fluoridnih iona iz bioaktivnih dentalnih materijala tijekom 14 dana prikazane su na *Slici 5*.



Slika 5. Grafički prikaz kumulativnih koncentracija otpuštenih fluoridnih iona iz bioaktivnih dentalnih materijala nakon topikalnog tretmana u razdoblju od 14 dana. Ista slova (a, b, c i d) uz pojedine krivulje označuju statistički sličan obrazac ponašanja materijala, odnosno otpuštanja fluoridnih iona.

Kruskall- Wallis one- way ANOVA test značajan ($p < 0,05$).

Dunn-ova post hoc analiza.

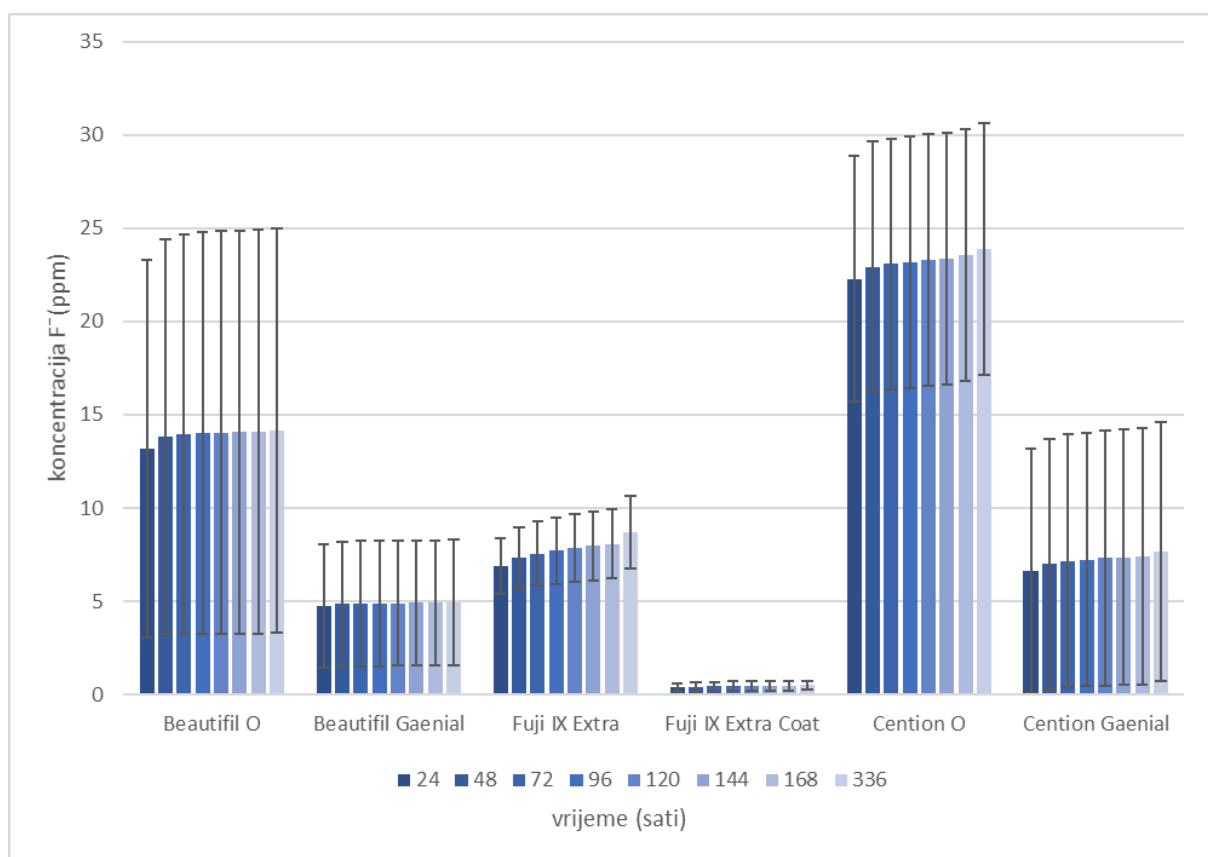
ppm- parts per million; F^- - fluoridni ion

Tijekom perioda od 14 dana (336 sati) u skupini materijala bez dentinskog adhezijskog sustava/premaza najveću kumulativnu koncentraciju fluoridnih iona ima Cention. Beautifil II se ponaša slično, no doseže niže vrijednosti kumulativnih koncentracija F^- (slovo d). Fuji IX Extra GP otpušta manje iona od Beautifil-a II i Cention-a.

Sve skupine materijala s dentinskim adhezijskim sustavom/ premazom otpuštaju manju koncentraciju fluoridnih iona u odnosu na iste skupine materijala bez dentinskog adhezijskog sustava/ premaza.

Najmanju kumulativnu koncentraciju tijekom perioda od 14 dana u skupini uzoraka s dentinskim adhezijskim sustavom/ premazom doseže Fuji IX Extra LC Coat.

Cention s dentinskim adhezijskim sustavom G-aenial™ Bond doseže sličnu vrijednost kumulativne koncentracije fluoridnih iona kao i Fuji IX Extra bez premaza. (bc grupa)



Slika 6. Grafički prikaz kumulativnih koncentracija otpuštenih fluoridnih iona nakon 14 dana sa označenim standardnim devijacijama.

Friedman-ov ANOVA test značajan ($p < 0,05$)

Dunn-ova post hoc analiza.

ppm- parts per million; F^- - fluoridni ion

Na grafičkom prikazu *Slike 6.* primjetan je „stepenasti“ porast u kojem su svake dvije sukcesivne vrijednosti međusobno slične.

Promjena vrijednosti mase uzoraka tijekom vremena

Tablica 2. Deskriptivna statistika promjene mase 14 dana nakon topikalnog tretmana bioaktivnih dentalnih materijala- Friedmanov test.

Deskriptivna statistika					
Bioaktivni dentalni materijal	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
BO hidrirani	6	.1549833	.00762874	.14520	.16510
BO dan 14	6	.1555333	.00761122	.14590	.16510
BG hidrirani	6	.1620333	.00452357	.15810	.17090
BG dan 14	6	.1616667	.00427489	.15710	.16980
CO hidrirani	6	.1578833	.00535329	.15170	.16690
CO dan 14	6	.1583167	.00597241	.15250	.16810
CG hidrirani	6	.1549667	.00713713	.14730	.16580
CG dan 14	6	.1545500	.00664041	.14850	.16530
FO hidrirani	6	.1453833	.00496525	.13890	.15150
FO 14	6	.1450333	.00510869	.13710	.15100
FC hidrirani	6	.1515167	.00607797	.14410	.15890
FC dan 14	6	.1518333	.00599188	.14470	.15950
N- broj; Mean- srednja vrijednost; Std. Deviation- standardna devijacija; BO- Beautifil; BG- Beautifil Gaenial™ Bond, CO- Cention; CG- Cention Gaenial™ Bond; FO- Fuji IX Extra; FC- Fuji IX Extra Coat LC					
Friedmanov test					

Tablica 3. Prikaz statistike testiranja promjene mase Friedmanova testom. Test se smatra statistički značajnim na razini 0,05.

Test statistics		
Bioaktivni dentalni materijal	N	Asymp. Sig.
BO	6	.046
BG	6	.414
CO	6	.414
CG	6	.414
FO	6	.414
FC	6	.102

N- broj; Asymp. Sig.(2-sided) p<0.05; BO- Beautifil; BG- Beautifil Gaenial™ Bond; CO- Cention; CG- Cention Gaenial Bond; FO- Fuji IX Extra; FC- Fuji IX Extra Coat

Nepremazani Beautifil II (BO) je jedini pokazao statističku značajnu razliku u promjeni mase nakon 14 dana od topikalnog tretmana. Zbog toga je učinjen dodatan test za sve materijale kako bi se provjerio ovaj nalaz.

Tablica 4. Deskriptivna statistika promjene mase 14 dana nakon topikalnog tretmana bioaktivnih dentalnih materijala- Wilcoxonov test.

Deskriptivna statistika					
Bioaktivni dentalni materijal	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
BO hidrirani	6	.1549833	.00762874	.14520	.16510
BO dan 14	6	.1555333	.00761122	.14590	.16510
BG hidrirani	6	.1620333	.00452357	.15810	.17090
BG dan 14	6	.1616667	.00427489	.15710	.16980
CO hidrirani	6	.1578833	.00535329	.15170	.16690
CO dan 14	6	.1583167	.00597241	.15250	.16810
CG hidrirani	6	.1549667	.00713713	.14730	.16580
CG dan 14	6	.1545500	.00664041	.14850	.16530
FO hidrirani	6	.1453833	.00496525	.13890	.15150
FO dan 14	6	.1450333	.00510869	.13710	.15100
FC hidrirani	6	.1515167	.00607797	.14410	.15890
FC dan 14	6	.1518333	.00599188	.14470	.15950

N- broj; Mean- srednja vrijednost; Std. Deviation- standardna devijacija; BO- Beautifil; BG- Beautifil Gaenial™; CO- Cention; CG- Cention Gaenial; FO- Fuji IX Extra; FC- Fuji IX Extra Coat

Tablica 5. Prikaz statistike testiranja promjene mase Wilcoxonovim testom. Test se smatra statistički značajnim na razini 0,05.

Test statistics						
	BO	BG	CO	CG	FO	FC
Z	-1.826 ^b	-1.156 ^c	-631 ^b	-943 ^c	-841 ^c	-1.823 ^b
Asym. Sig. (2-tailed)	.068	.248	.528	.345	.400	.068
Asymp. Sig. (2-sided) $p < 0.05$; BO- Beautifil; BG- Beautifil Gaenial™; CO- Cention; CG- Cention Gaenial; FO- Fuji IX Extra; FC- Fuji IX Extra Coat a- Wilcoxon Signed Ranks test b- Based on negative ranks c- Based on positive ranks						

Wilcoxonov test nije pokazao statistički značajnu promjenu mase ni za jedan bioaktivni dentalni materijal ($p > 0,05$), stoga se može pretpostaviti da je statistički značajan nalaz promjene mase kod nepremazanog Beautifil-a u Friedmanovu testu rezultat slučajnosti.

5. RASPRAVA

S obzirom da je poznato kako bioaktivni restaurativni materijali s vremenom gube sposobnost otpuštanja fluoridnih iona (10), važno je doprinijeti u istraživanju ponovne mogućnosti punjenja takvih "ispražnjenih" materijala. U tom smislu proces ponovnog punjenja bioaktivnih dentalnih materijala nakon topikalne fluoridacije mogao bi biti vredniji u odnosu na proces dugoročnog otpuštanja fluorida iz strukture materijala (10,19). Materijal koji otpušta fluoridne ione i istovremeno nudi mogućnost naknadnog punjenja fluoridnim ionima od višestruke je vrijednosti. Osim što procese demineralizacije okreće u korist procesa remineralizacije, vidljiv je i potencijal u prevenciji ili zaustavljanju napredovanja sekundarnog karijesa (20).

Međutim, da bismo proces progresije sekundarnog karijesa zaustavili, važno je i nakon inicijalnog otpuštanja fluorida iz bioaktivnih materijala, materijalu očuvati konstantni priljev fluoridnih iona izvana (21).

U istraživanju Gui i sur. (22) ispitivana je mogućnost otpuštanja fluorida i ponovnog punjenja fluoridima šest restaurativnih dentalnih materijala. Materijali su 28. dan istraživanja tretirani fluoridnom pjenom i mjerena je koncentracija otpuštenih iona. Prema njihovim rezultatima staklenoionomerni cementi Fuji VII i Fuji II LC mogu primiti veću količinu fluoridnih iona u odnosu na Beautifil giomerni materijal. Osim toga Naoum i sur. (14) tretirali su 18 mjeseci stare uzorke restaurativnih materijala NeutraFluor 5000 Plus(Colgate, NY, USA) gelom i potom izmjerili otpuštanje fluoridnih iona. Rezultati govore da Beautifil II nakon tretmana fluoridnim gelom ima usporediv obrazac otpuštanja fluoridnih iona s dugoročnim otpuštanjem iona iz materijala Fuji IX Extra. Također Beautifil II nakon punjenja ionima otpušta više fluoridnih iona u odnosu na kompozitne materijale koji u svom sastavu imaju inkorporiran fluor. Naoum i sur. su proveli još jedno istraživanje (23) u kojem Beautifil II pokazaje veći stupanj otpuštanja fluorida nakon topikalnog tretmana otopinom natrijevog fluorida (5000 ppm F⁻) u odnosu na kompozitne materijale. Međutim, koncentracija otpuštenih F⁻ iona nakon punjenja je manja u odnosu na Fuji IX Extra (23).

Rezultati navedenih studija su u suprotnosti s rezultatima dobivenim ovim istraživanjem. Prema našim rezultatima giomerni materijal Beautifil II, nakon topikalnog tretmana Miradent gelom, primi više fluoridnih iona u odnosu na konvencionalni SIC Fuji IX Extra. Ove su razlike mogle nastati zbog razlika u provođenju studija pri čemu navedene studije nisu koristile sve materijale koji su korišteni u našem istraživanju i

direktno ih uspoređivale. Osim toga, na razlike u otpuštanju fluorida nakon topikalnog tretmana uzoraka vjerojatno utječu i drugačije otopine i gelovi kojima su uzorci tretirani kao i različite koncentracije fluoridnih iona u njima.

Razlike u otpuštanju mogle bi se objasniti i starošću materijala. U našem istraživanju uzorci su stari 25 mjeseci dok su u navedenim istraživanjima uzorci stari 14 dana, 18 dana ili pak 18 mjeseci. Ovu tvrdnju potvrđuje istraživanje Nicholsona i Czarnecka (24), prema kojem zrelost staklenoionomernih materijala utječe na količinu iona koju ti materijali mogu vezati kada su izloženi mediju koji sadrži fluoridne ione. Iako Fuji IX Extra kod inicijalnog otpuštanja iz samog materijala ima veću sposobnost otpuštanja fluoridnih iona u odnosu na Cention ili Beautifil II (13), količina iona koju je u našem istraživanju otpustio nakon topikalnog tretmana je inferiornija u odnosu na Cention ili Beautifil II jednake starosti uzoraka. Osim toga, ističe se mogućnost da preparati veće koncentracije fluoridnih iona doprinose većem stupnju adsorbiranja fluoridnih iona na restaurativne materijale (11,24).

Isto tako, uzrok razlike među rezultatima navedenih istraživanja i našeg istraživanja mogla bi biti drugačije odabrana vremenska točka topikalnog tretmana uzoraka fluoridnim preparatima. Primjerice, u istraživanju Bansal i Bansal (15) uzorci su topikalno tretirani 15. dan starosti dok su u našem istraživanju uzorci stari 25 mjeseci. Stoga smatramo da tretiranje uzoraka za koje je poznato da dugoročno imaju sposobnost otpuštanja fluoridnih iona (11), u vrijeme kada je moguće da ni njihovo inicijalno otpuštanje fluorida još nije završilo, može dovesti do sumacije fluoridnih iona koji dopiru iz matriksa materijala i topikalno nanesenih iona i lažno povećanih vrijednosti otpuštanja fluoridnih iona.

Slično našim rezultatima dobili su Rai i sur. (18) koji u svom istraživanju tri restaurativna materijala izlažu otopini natrijevog fluorida i pokazuju da su vrijednosti punjenja materijala Cention fluoridnim ionima značajno veće u odnosu na materijale Zirconomer i GC Gold Label IX Extra, između kojih pak nema statistički značajnih razlika u stupnju punjivosti. Rezultati istraživanja Ruengrungsom i sur. (12) govore da Cention N ima veću sposobnost otpuštanja fluoridnih iona u odnosu na neke staklenoionomerne materijale što se slaže s rezultatima dobivenim ovim istraživanjem.

Takav rezultat bi se mogao objasniti sastavom samog materijala Cention. On u sebi sadrži četiri različita tipa punila, od kojih su čak tri obogaćena fluoridnim ionima. Iterbijev trifluorid, kalcij-barij-aluminij fluorosilikatno staklo te kalcij fluorosilikat kao punila mogli bi biti razlog izrazito visokog stupnja otpuštenih fluoridnih iona (18).

U istraživanju Mousavinasab i Meyers (4) Fuji IX je otpustio manju količinu fluora u odnosu na Fuji VII što se objašnjava razlikom u fizikalnim i kemijskim svojstvima između ovih materijala. Nisko oslobađanje fluorida pripisuje se česticama staklenog punila i monovalentnim vezama koje polimerne lance drže u bliskom kontaktu otežavajući molekulama vode interakciju s punilom te posljedično otpuštanje manje fluoridnih iona (4).

Manja količina otpuštenih iona kod materijala Fuji IX extra u našem istraživanju u odnosu na materijale CO i BO mogli bismo također objasniti čvrstoćom veze polimernih lanaca u strukturi materijala o čemu se govori i u istraživanjima (4,25).

Čvršća veza vjerojatno zahtijeva veću uloženu energiju potrebnu za međumolekularnu interakciju vode i staklenog punila. Stoga, manje otpuštenih fluoridnih iona tijekom inicijalne reakcije ostavlja manje poroznosti unutar samog materijala i samim time manje prostora u koje bi se prilikom topikalnog tretmana dostupan fluor mogao smjestiti. Prethodno navedenim se dokazuje da svi ispitivani materijali u našem istraživanju mogu u određenoj mjeri biti napunjeni fluoridnim ionima, čime odbacuje prva nul hipoteza. S obzirom na razlike u količini nanovo otpuštenih fluoridnih iona, druga nul hipoteza se potvrđuje.

U našem je istraživanju Beautifil II pokazao manju mogućnost otpuštanja fluoridnih iona nakon topikalnog tretmana u odnosu na Cention. Ovaj bismo rezultat mogli objasniti sastavom samog materijala. Beautifil II sadrži kao fluoridnu komponentu čestice stakla (S-PRG; eng. surface prereacted glass ionomer) koje su prethodno izreagirale sa česticama fluoroaluminosilikatnog stakla. Na taj način u materijalu se nalazi vrlo malo čestica koje podliježu acido-baznoj reakciji otpuštajući fluoridne ione u okolinu. Međutim, starenjem materijala te izlaganje materijala vodenom mediju tijekom prethodnog istraživanja (13) moglo je dovesti do strukturnih promjena i poroznosti unutar samog materijala ostavljajući mjesta na koje se tijekom topikalnog tretmana NaF gelom u ovom istraživanju fluoridni ioni mogu smjestiti.

U suprotnosti prema ranije navedenom istraživanju (4) Beautifil II je otpustio veće količine fluoridnih iona u odnosu na Fuji IX Extra. Međutim, u navedenom je istraživanju

mjerena količina iona koja se inicijalno otpušta iz materijala. Giomerni materijali osim S-PRG čestica staklenog punila imaju u svom sastavu i smolastu komponentu što ih nakon svjetlosne polimerizacije, u odnosu na acidobaznu reakciju kojom se stvrdnjavaju konvencionalni GIC, čini manje hidrofilnim i poroznim materijalima. Svjetlosno induciranom reakcijom polimerizacije se stvrdnjava i Cention. Ovakav tip polimerizacije otvara mogućnost da u polimernom materijalu uslijed nedovoljne konverzije monomera u polimer, zaostane monomer koji predstavlja predilekcijska mjesta na koja se tijekom topikalnog tretmana fluoridni ioni mogu smjestiti. S druge strane acidobazna reakcija stvrdnjavanja kod Fuji IX Extra materijala ne ovisi o manipulaciji operatera, ona se odvija sve dok čestice baze i aktivatora ne izreagiraju, a njihov je omjer unaprijed tvornički određen. O problematici svjetlosno polimerizirajućih materijala i zaostatnog monomera raspravlja se i u istraživanju (26).

Isto tako s vremenom materijali postaju porozni što omogućava interakciju molekula vode s česticama punila i dugoročno gledajući stopa otpuštanja fluorida giomernih materijala se izjednačava sa stopom otpuštanja fluorida iz GIC. To potvrđuje istraživanje Asmussen i Peutzfeldt (27) u kojem se nakon 3 godine stopa otpuštanja kompomernih, giomernih materijala izjednačava sa stopom otpuštanja GIC.

Pregledom suvremene literature, nije provedeno istraživanje s materijalima Cention, Beautifil II, Fuji IX Extra u kojem je proučavan utjecaj dentinskih adhezijskih sustava, odnosno premaza na mogućnost punjenja i naknadnog otpuštanja fluoridnih iona. U ovom istraživanju primjetno je statistički značajno manje otpuštanje fluoridnih iona kod svih uzoraka materijala koji su bili premazani dentinskim adhezijskim sustavom/premazom u odnosu na uzorke bez adheziva/premaza, čime se treća nul hipoteza odbacuje. To bi se moglo objasniti pojavom da i prilikom inicijalnog otpuštanja iona iz bioaktivnih dentalnih materijala, dentinski adhezijski sustavi/premazi smanjuju stupanj otpuštanja fluorida (28), a postoji mogućnost da i prilikom "recharge protokola" ti isti adhezivi/premazi mehanički ometaju punjenje fluoridima pa su posljedično dobivene manje vrijednosti fluoridnih iona u mjerenim otopinama.

U istraživanju Kelić i sur. (13), koje je prethodilo ovom istraživanju, dokazuje se da količina otpuštenih fluoridnih iona iz uzoraka koji su bili tretirani dentinskim adhezijskim sustavima ili zaštitnim premazima ima niže vrijednosti od istih nepremazanih uzoraka.

Također, Miranda i suradnici proučavali su utjecaj dentinskih adhezijskih sustava na smolom modificirane SIC-eve i smole koje otpuštaju ione fluora (29). Dentinski adhezijski sustavi značajno smanjuju difuziju fluoridnih iona iz smolom modificiranih SIC-eva, a količina fluoridnih iona oslobođena iz smole toliko je niskih vrijednosti da nije ni mjerljiva (29).

Zanimljiv je i nalaz kako nepremazani Fuji IX Extra pokazuje sličan obrazac ponašanja kao i premazani Cention. Tijekom perioda od 14 dana otpustili su slične vrijednosti fluoridnih iona. S obzirom da nepremazani Cention pokazuje najveće vrijednosti otpuštanja iona, onda i njegov ekvivalent, iako premazani, pokazuje usporedive kumulativne koncentracije kao i materijal u skupini nepremazanih (FO) koji otpušta najmanje iona. U prethodno provedenom istraživanju Kelić i sur. (13) primjetan je istovjetan nalaz. Nepremazani materijal koji otpušta najmanje fluoridnih iona, u njihovom slučaju Beautifil II, pokazuje usporedive kumulativne koncentracije kao i premazani materijali koji otpušta najviše iona (Fuji GC Coat LC). Jednako tako, FO je ekvivalent koji otpušta najviše iona u skupini materijala bez premaza, kao što je to CO u našem slučaju.

Budući da u istraživanju nije pronađena statistički značajna promjena mase uzoraka tijekom perioda od 14 dana, četvrta nul hipoteza se potvrđuje.

S obzirom na ograničen broj radova u domeni proučavanja mogućnosti naknadnog punjenja i otpuštanja fluoridnih iona iz bioaktivnih materijala potrebna su daljnja istraživanja. Pojedina istraživanja navode kako veću vrijednost u prevenciji sekundarnog karijesa ima kontinuiran dotok fluoridnih iona negoli sam *burst-effect* pa bi time recharge protokol bio odlično rješenje u pacijenata s visokim rizikom za nastanak karijesa (21). No, s druge strane, postoje oprečna istraživanja koja navode da prilikom topikalnog tretmana visokokoncentriranim gelovima (APF gel) dolazi do površinskih erozija uzoraka što olakšava nakupljanje biofilma pa materijal potencijalno postaje podložniji trošenju (30).

S obzirom na in vitro uvjete naše studije, prilikom govora o kliničkom značaju naših rezultata treba imati na umu ograničenosti ovog istraživanja. Naime, otpuštanje

fluoridnih iona ovisi i o sastavu sline te pH vrijednosti, biofilmu, nastanku pelikule, mjestu na koje ioni difundiraju (6,11,31).

Stupanj otpuštanja fluoridnih iona u ovom je istraživanju proučavan u neutralnim pH uvjetima. Budući da je otpuštanje fluoridnih iona veće u kiselim nego u neutralnim uvjetima (11,13) trebalo bi provesti daljnja istraživanja kako bi se dokazalo otpuštanje iona u većoj mjeri u kiselim uvjetima i nakon recharge tretmana (32).

S obzirom na to, potrebna su dodatna istraživanja na *in vivo* modelima da bi se dobiveni rezultati mogli klinički implementirati .

6. ZAKLJUČCI

Bioaktivni dentalni materijali Cention, Beautifil II i Fuji IX Extra GP mogu biti nanovo napunjeni fluoridnim ionima nakon topikalnog tretmana visokokonzentriranim fluoridnim gelom. Prisustvo dentinskog adhezijskog sustava/ premaza značajno smanjuje stupanj punjivosti materijala. Ako postoji koncentracijski gradijent, ti ioni mogu biti i otpušteni. Među materijalima bez dentinskih adhezijskih sustava/ premaza najveću kumulativnu koncentraciju otpuštenih iona tijekom perioda od 14 dana ima Cention, a najmanju Fuji IX Extra GP. Ne pronalazi se statistički značajna razlika u promjeni mase uzoraka materijala.

7. ZAHVALE

Zahvaljujemo mentorici izv. prof. dr. sc. Kristini Peroš na velikodušnoj pomoći i usmjeravanju, izdvojenom vremenu, savjetima te samoj prilici za provođenje ovog znanstvenog istraživanja.

Hvala Ankici Tečić, lab. teh. na izdvojenom vremenu, pomoći i stručnim savjetima prilikom izvođenja laboratorijskog dijela istraživanja.

Hvala doc. dr. sc. Mateju Paru na nesebičnoj pomoći i uloženom vremenu prilikom statističke obrade podataka.

Zahvaljujemo ostalim sudionicima ovog projekta, izv. prof. dr. sc. Ivani Šutej, dr. sc. Katarini Kelić, izv. prof. dr. sc. Kristini Peroš, doc. dr. sc. Mateju Paru te prof. dr. sc. Zrinki Tarle, na odobrenju i omogućavanju provođenja nastavka njihovog istraživanja.

Zahvaljujemo lektorici hrvatskog jezika Marini Šramek, prof., na trudu i izdvojenom vremenu.

Hvala također i lektorici engleskog jezika Jasmini Bunčić, prof., na trudu i izdvojenom vremenu.

8. POPIS LITERATURE

1. Buzalaf MAR, Pessan JP, Honório HM, ten Cate JM. Mechanisms of Action of Fluoride for Caries Control. In: Buzalaf MAR, editor. Monographs in Oral Science. Basel: KARGER; 2011. p. 97–114.
2. Virupaxi SG, Roshan NM, Poornima P, Nagaveni NB, Neena IE, Bharath KP. Comparative Evaluation of Longevity of Fluoride Release From three Different Fluoride Varnishes – An Invitro Study. *J Clin Diagn Res* 2016;10(8):ZC33-6
3. Erdwey D, Meyer-Lueckel H, Esteves-Oliveira M, Apel C, Wierichs RJ. Demineralization Inhibitory Effects of Highly Concentrated Fluoride Dentifrice and Fluoride Gels/Solutions on Sound Dentin and Artificial Dentin Caries Lesions in vitro. *Caries Res.* 2021;55(1):41–54.
4. Mousavinasab SM, Meyers I. Fluoride release by glass ionomer cements, compomer and giomer. *Dent Res J.* 2009;6(2):75–81.
5. Bayrak S, Tunc ES, Aksoy A, Ertas E, Guvenc D, Ozer S. Fluoride release and recharge from different materials used as fissure sealants. *Eur J Dent.* 2010;4(3):245–50.
6. Williams JA, Billington RW, Pearson GJ. A long term study of fluoride release from metal-containing conventional and resin-modified glass-ionomer cements. *J Oral Rehabil.* 2001;28(1):41–7.
7. Yli-Urpo H, Vallittu PK, Närhi TO, Forsback AP, Väkiparta M. Release of Silica, Calcium, Phosphorus, and Fluoride from Glass Ionomer Cement Containing Bioactive Glass. *J Biomater Appl.* 2004;19(1):5–20.
8. Paul S, Raina A, Kour S, Mishra S, Bansal M, Sengupta A. Comparative evaluation of fluoride release and re-release and recharge potential of Zirconomer Improved and Cention. *J Conserv Dent JCD.* 2021/01/16 ed. 2020;23(4):402–6.
9. Surintanasarn A, Siralermukul K, Thamrongananskul N. Synthesized mesoporous silica and calcium aluminate cement fillers increased the fluoride recharge and lactic acid neutralizing ability of a resin-based pit and fissure sealant. *Dent Mater J.* 2017;36(6):706–13.
10. Preston AJ, Higham SM, Agalamanyi EA, Mair LH. Fluoride recharge of aesthetic dental materials. *J Oral Rehabil.* 1999;26(12):936–40.
11. Wiegand A, Buchalla W, Attin T. Review on fluoride-releasing restorative materials—Fluoride release and uptake characteristics, antibacterial activity and

- influence on caries formation. *Dent Mater.* 2007;23(3):343–62.
12. Ruengrungsom C, Burrow MF, Parashos P, Palamara JEA. Evaluation of F, Ca, and P release and microhardness of eleven ion-leaching restorative materials and the recharge efficacy using a new Ca/P containing fluoride varnish. *J Dent.* 2020;102:103474.
 13. Kelić K., *Otpuštanje fluorida i promjena pH vrijednosti otopine tijekom imerzije bioaktivnih dentalnih materijala*, doktorski rad, Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2021.
 14. Naoum S, Martin E, Ellakwa A. Long-Term Fluoride Exchanges at Restoration Surfaces and Effects on Surface Mechanical Properties. *ISRN Dent.* 2013;19:1–8.
 15. Bansal R, Bansal T. A Comparative Evaluation of the Amount of Fluoride Release and Re-Release after Recharging from Aesthetic Restorative Materials: An in Vitro Study. *J Clin Diagn Res.* 2015;9(8):ZC11-4.
 16. Kumari PD, Khijmatgar S, Chowdhury A, Lynch E, Chowdhury CR. Factors influencing fluoride release in atraumatic restorative treatment (ART) materials: A review. *J Oral Biol Craniofacial Res.* 2019;9(4):315–20.
 17. Surintanasarn A, Siralertmukul K, Thamrongananskul N. Synthesized mesoporous silica and calcium aluminate cement fillers increased the fluoride recharge and lactic acid neutralizing ability of a resin-based pit and fissure sealant. *Dent Mater J.* 2017;36(6):706–13.
 18. Rai S, Kumari RA, Meena N. Comparative assessment of fluoride release and recharge through newer fluoride releasing posterior restorative materials: An in vitro study. *J Conserv Dent JCD.* 2019;22(6):544–7.
 19. Featherstone JDB, Glena R, Shariati M, Shields CP. Dependence of in vitro Demineralization of Apatite and Remineralization of Dental Enamel on Fluoride Concentration. *J Dent Res.* 1990;69(S2):620–5.
 20. Retief DH, Bradley EL, Denton JC, Switzer P. Enamel and Cementum Fluoride Uptake from a Glass Ionomer Cement. *Caries Res.* 1984;18(3):250–7.
 21. Gao W, Smales RJ. Fluoride release/uptake of conventional and resin-modified glass ionomers, and compomers. *J Dent.* 2001;29(4):301–6.
 22. Gui Y, Zhao X, Li S, Tang L, Gong X. [Fluoride release and recharge properties of six restorative materials]. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi Zhonghua Kouqiang Yixue Zazhi Chin J Stomatol.* 2015;50(1):28–32.
 23. Naoum S, Ellakwa A, Martin F, Swain M. Fluoride Release, Recharge and

- Mechanical Property Stability of Various Fluoride-containing Resin Composites. *Oper Dent.* 2011;36(4):422–32.
24. Nicholson JW, Czarnecka B. Maturation affects fluoride uptake by glass-ionomer dental cements. *Dent Mater.* 2012;28(2):e1–5.
 25. Dijkman GEHM, de Vries J, Lodding A, Arends J. Long-Term Fluoride Release of Visible Light-Activated Composites in vitro: A Correlation with in situ Demineralisation Data. *Caries Res.* 1993;27(2):117–23.
 26. Jan CM, Nomura Y, Urabe H, Okazaki M, Shintani H. The relationship between leachability of polymerization initiator and degree of conversion of visible light-cured resin. *J Biomed Mater Res.* 2001;58(1):42–6.
 27. Asmussen E, Peutzfeldt A. Long-term fluoride release from a glass ionomer cement, a compomer, and from experimental resin composites. *Acta Odontol Scand.* 2002;60(2):93–7.
 28. Kelić K, Par M, Peroš K, Šutej I, Tarle Z. Fluoride-Releasing Restorative Materials: The Effect of a Resinous Coat on Ion Release. *Acta Stomatol Croat.* 2020;54(4):371-381.
 29. Miranda LA, Weidlich P, Samuel SMW, Maltz M. Fluoride Release from Restorative Materials Coated with an Adhesive. *Braz Dent J.* 2002;13(1):39-43.
 30. Preston AJ, Agalamanyi EA, Higham SM, Mair LH. The recharge of esthetic dental restorative materials with fluoride in vitro-two years' results. *Dent Mater Off Publ Acad Dent Mater.* 2003;19(1):32–7.
 31. Bell A, Creanor SL, Foye RH, Saunders WP. The effect of saliva on fluoride release by a glass-ionomer filling material. *J Oral Rehabil.* 1999;26(5):407–12.
 32. Garcez RMV de B, Buzalaf MAR, de Araújo PA. Fluoride release of six restorative materials in water and pH-cycling solutions. *J Appl Oral Sci Rev FOB.* 2007;15(5):406–11.

9. SAŽETAK

Marija Kelić, Domagoj Kilić

ISPITIVANJE MOGUĆNOSTI PUNJENJA TE NAKNADNOG OTPUŠTANJA FLUORIDNIH IONA IZ BIOAKTIVNIH DENTALNIH MATERIJALA NAKON PREMAZIVANJA VISOKOKONCENTRIRANIM FLUORIDNIM GELOM

UVOD: Topikalna primjena fluorida danas se smatra jednim od najboljih načina prevencije karijesa te presretanja i zaustavljanja karijesnog procesa. Svrha ovog rada bila je utvrditi mogućnost punjenja (*recharge*) restaurativnih materijala, koji su prethodno već otpustili ione, fluoridnim ionima te utvrditi stupanj naknadnog otpuštanja (*re-release*) fluorida nakon topikalnog tretmana visokokonzentriranim fluoridnim gelom.

MATERIJALI I METODE: Korištena su tri bioaktivna restaurativna materijala (Fuji IX Extra, Beautifil II, Cention) te adhezijski sustav (G-aenial™ Bond) i staklenoionomerni premaz (GC Fuji Coat LC). Svaki od materijala podijeljen je u dvije podskupine od 6 uzoraka (jedna je skupina uzoraka premazana adhezijskim sustavom ili staklenoionomernim premazom, a druga je skupina nepremazana). Navedeni uzorci su hidrirani i izmjerene su im mase. Nakon 24 sata uzorci su tretirani Miradent Mirafluor^r - gelom, a zatim su ispirani destiliranom vodom. Tako tretirani uzorci su pohranjeni u polistirenske čašice i stavljeni u inkubator na 37°C tijekom vremena od 24 sata. Otpuštanje fluoridnih iona mjereno je u intervalu od 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 i 14 dana. Količina fluoridnih iona otpuštenih nakon topikalnog tretmana izmjerena je standardnom metodom pomoću ion selektivne elektrode Orion 9609BNWP.

REZULTATI: Tijekom perioda od 14 dana kumulativne su se koncentracije fluoridnih iona nakon topikalnog tretmana za uzorke bez dentinskog adhezijskog sustava/ premaza razlikovale prema ispitivanim materijalima sljedećim redoslijedom: Cention > Beautifil II > Fuji IX Extra ($p < 0,05$). Koncentracije ponovno otpuštenih fluoridnih iona za uzorke premazane dentinskim adhezijskim sustavom/ premazom su se razlikovale navedenim redoslijedom: Cention G-aenial > Beautifil G-aenial > Fuji IX Extra Coat LC ($p < 0,05$). U masi uzoraka nije izmjerena statistički značajna promjena.

ZAKLJUČAK: Ispitivani bioaktivni dentalni materijali pokazuju mogućnost ponovnog punjenja i naknadnog otpuštanja fluoridnih iona. Adhezijski sustavi/

staklenoionomerni premazi ometaju proces ponovnog punjenja restaurativnih materijala. Cention pokazuje veću mogućnost ponovnog punjenja u odnosu na materijale Beautifil II i Fuji IX Extra. Potrebna su daljnja istraživanja na *in vivo* modelima da se utvrdi stvarna klinička vrijednost mogućnosti punjenja bioaktivnih materijala u složenom sustavu kao što je usna šupljina.

KLJUČNE RIJEČI: bioaktivni materijali, adhezijski sustavi, topikalni tretman, fluoride *recharge*, fluoride *re-release*

10. SUMMARY

Marija Kelić, Domagoj Kilić

TESTING THE POSSIBILITY OF LOADING AND SUBSEQUENT RELEASE OF FLUORIDE IONS FROM BIOACTIVE DENTAL MATERIALS AFTER COATING WITH HIGHLY CONCENTRATED FLUORIDE GEL

INTRODUCTION: Topical application of fluoride is considered today as one of the best ways to prevent caries as well as to intercept and stop the caries process. The purpose of this study was to determine the possibility of recharge of restorative materials that have previously released ions, fluoride ions and the degree of subsequent release (re-release) of fluoride after topical treatment with highly concentrated fluoride gel.

MATERIALS AND METHODS: Three bioactive restorative materials (Fuji IX Extra, Beautifil II, Cention) and an adhesion system (G-aenial™ Bond) and a glass-ionomer coating (GC Fuji Coat LC) were used. Each of the materials was divided into two subgroups of 6 samples (one subgroup of samples was coated with an adhesive system or glass-ionomer coating and the other group was uncoated). These samples were hydrated and their masses were measured. After 24 hours, the samples were treated with Miradent Mirafleur gel and then washed with distilled water. The treated samples were stored in polystyrene cups and placed in an incubator at 37 ° C for 24 hours. Fluoride ion release was measured in the interval of 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, and 14 days. The number of fluoride ions released after topical treatment was measured by the standard method using the Orion 9609BNWP ion selective electrode.

RESULTS: Over a period of 14 days, the cumulative fluoride ion concentrations after topical treatment for samples without dental adhesion system / coating differed according to the tested materials in the following order: Cention > Beautifil II > Fuji IX Extra ($p < 0.05$). The concentrations of re-released fluoride ions for samples coated with dentin adhesion system / coating differed in the following order: Cention G-aenial > Beautifil G-aenial > Fuji IX Extra Coat LC ($p < 0.05$). No statistically significant change was found in the mass of the samples.

CONCLUSION: The tested bioactive dental materials show the possibility of refilling and subsequent release of fluoride ions. Adhesion systems / glass ionomer coatings interfere with the refilling process of restorative materials. Cention shows a higher rechargeability compared to Beautifil II and Fuji IX Extra. Further research on *in vivo* models is needed to determine the actual clinical value of the possibility of filling bioactive materials in a complex system such as the oral cavity.

KEYWORDS: bioactive materials, adhesive systems, topical treatment, fluoride recharge, fluoride re-release