

Sveučilište u Zagrebu
Stomatološki fakultet

Ana Brundić i Katarina Franić

**UTJECAJ KONTAMINACIJE HUMANOM KRVLJU NA MIKROTVRDOĆU
STAKLENOIONOMERNIH CEMENATA I STAKLOHIBRIDNOG MATERIJALA**

Zagreb, 2024.

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za endodonciju i restaurativnu stomatologiju Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Anje Barabe i predan je na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2023./2024.

Ovaj rad izrađen je u okviru istraživačkog projekta HRZZ-a pod naslovom “Modifikacija strukture i vezne površine biomaterijala i tvrdih zubnih tkiva, projekt HRZZ-a, IP-2022-10-6065”.

KRATICE

SIC - staklenoionomerni cement

HEMA - engl. 2-hydroxyethyl methacrylate, hrv. 2-hidroksietil-metakrilat

2,2,4 TMHEDC - engl. 2,2,4 trimethyl hexamethylene dicarbonate, hrv. 2,2,4 trimetil heksametilen dikarbonat

TEGDMA - engl. triethylene glycol dimethacrylate, hrv. trietilen glikol dimetakrilat

HV - engl. hardness Vickers, hrv. oznaka za tvrdoću po Vickersu

PBS - engl. phosphate-buffered saline, hrv. fiziološka otopina s fosfatnim puferom

SADRŽAJ RADA

1. UVOD.....	1
2. HIPOTEZA.....	4
3. MATERIJALI I METODE RADA	5
4. REZULTATI	17
5. RASPRAVA.....	21
6. ZAKLJUČCI.....	25
7. ZAHVALE	26
8. LITERATURA	27
9. SAŽETAK	31
10. SUMMARY	33

1. UVOD

Uslijed brzog razvoja dentalnih materijala, znanstvenici su u drugoj polovici 20. stoljeća prepoznali potrebu za biokompatibilnim i bioaktivnim materijalom. S tim su ciljevima Wilson i Kent 1972. razvili staklenoionomerni cement (SIC), a već ga je 1973. McLean preporučio za kliničku primjenu u dentalnoj medicini (1). Unatoč tome što idealni materijal koji u potpunosti može oponašati caklinu i dentin ne postoji, od trenutka njihovog otkrića pa sve do danas, aktivno se radi na usavršavanju sastava i svojstava SIC-a.

Ovaj hidrofilni dvokomponentni materijal sastoji se od praška i tekućine te se kemijski svezuje na površinu tvrdih zubnih tkiva. Prašak je po sastavu kalcij fluoroaluminosilikatno staklo te se sastoji od silicijeva dioksida, aluminijskoga oksida, kalcijeva fluorida, aluminijskoga fosfata, natrijskoga fluorida i aluminijskoga fluorida. Vrsta i udio pojedinih komponenata praha razlikuju se ovisno o proizvođaču (2-4). Tekuća komponenta SIC-a je 35-65%-tna vodena otopina organskih kiselina, kopolimeri akrilne kiseline te odnedavno i vinil-fosfonska kiselina. Odabir kiseline utječe na reaktivnost cementa te ubrzava stvrdnjavanje cementa, u usporedbi s početnim verzijama, za čak 20 minuta. Originalno je vodena otopina poliakrilne kiseline činila 50% tekućeg dijela SIC-a, no zbog problema u skladištenju, odnosno njenog geliranja nakon već 10-30 minuta, dodane su i druge kiseline poput itakonske, tartarne, salicilne, limunske ili octene kiseline. Voda je, uz već navedene kiseline, također važan dio tekućeg dijela te čini 24% stvrdnutog SIC-a (3, 5). Zbog svojih negativnih karakteristika poput krhkosti, sklonosti lomovima, osjetljivosti na vlagu i općenito slabijim mehaničkim svojstvima, u sastav SIC-a su tijekom vremena dodane različite čestice, poput bioaktivnog apatita sa ili bez cirkona, cink, čestice metala, smole, nano čestice, aminokiseline i druge kojima je svrha poboljšanje mehaničkih svojstva (6, 7).

Visoko viskozni SIC razvili su se sredinom 1990.-tih (8) u svrhu poboljšanja mehaničkih svojstava konvencionalnih staklenoionomernih cementa (9). Osnovna razlika, u odnosu na konvencionalne staklenoionomerne cimente, je povećan omjer praha i tekućine te smanjenje veličine čestica praha (10). Na taj način povećava se zasićenost tekuće komponente prahom, a time i kompaktnost što rezultira boljom otpornošću na abraziju, odnosno boljim mehaničkim svojstvima (11).

Smolom modificirani SIC pojavili su se na tržištu 1991. godine kao materijali koji objedinjuju prednosti kompozitnih materijala i staklenoionomernih cementa. Osim praha i kiseline, sadrže smolastu monomernu komponentu koju čine organska matrica kompozitnih materijala te odgovarajući inicijator polimerizacije. Kao monomer najčešće se koristi 2-hidroksietil-metakrilat (engl. 2-hydroxyethyl methacrylate, HEMA), a kao inicijator kamforkinon. Kiseli polimer kod nekih materijala je promijenjen na način da postranični lanci koji završavaju nezasićenim vinilnim

skupinama sudjeluju u polimerizaciji. Stvrđavaju se acidobaznom reakcijom i reakcijom polimerizacije istovremeno. Biokompatibilnost smolom modificiranih SIC je slabija u odnosu na konvencionalne staklenoionomere zbog otpuštanja HEMA monomera (12, 13).

Unatoč mnogim prednostima, odabir SIC-a kao dugotrajnog restaurativnog materijala na stražnjim zubima, gdje je žvačno opterećenje veće, ne smatra se najboljim rješenjem uslijed njegovih slabijih mehaničkih svojstava (14).

2007. godine GC korporacija (Tokio, Japan) ponudila je na tržištu novi restaurativni sustav po imenu EQUIA koji je kombinacija visokoviskoznog SIC materijala i nanopunjenog premaza. Upravo su nanočestice u sastavu zaštitnog premaza (Equia Coat-a) zaslužne za bolja mehanička svojstva ovog materijala pa se isti može koristiti za izradu dugotrajnih restauracija u stražnjoj regiji. Zaštitni premaz kod opisanog mikrolaminiranog SIC-a poboljšava i estetiku materijala. 2014. godine, GC predstavlja novi sustav nazvan EQUIA Forte, a 2019. EQUIA Forte HT koji su poznati kao staklohibridni materijali. Staklohibridni materijali nastaju modifikacijom standardnog staklenog matriksa na način da mu se dodaju staklene čestice različitih veličina, posebice manjih čija je reaktivnost veća. Osim toga, materijalu je dodana poliakrilna kiselina visoke molekularne težine koja jezgru materijala čini kemijski stabilnom. Na taj način poboljšavaju se mehanička svojstva materijala pa je isti prikladan za izradu dugotrajnih ispuna u stražnjoj regiji (15, 16). EQUIA Forte HT sustav, uz EQUIA Forte HT Fil sadrži i EQUIA Forte Coat premaz koji štiti i poboljšava mehanička svojstva EQUIA Forte HT Fil restauracije. Premaz u sastavu sadrži punilo silicijevog dioksida veličine 40 nm koje je ravnomjerno raspršeno i tako se povećava otpornost materijala, odnosno ispuna na trošenje. Također sadrži visoko reaktivan monomer koji je, prema proizvođaču, zaslužan za povećanje tvrdoće materijala za oko 35%. Premaz formira sloj debljine 35 – 40 μm ispunjavajući poroznosti materijala čime se osigurava glatka površina restauracije (17).

Mehanička svojstva materijala ovise o njegovom sastavu, ali i o uvjetima pri izradi restaurativnog ispuna. Za testiranje mehaničkih svojstva materijala, često se koristi ispitivanje tvrdoće, a ovisno o upotrebljenoj sili, razlikujemo makro-, mikro- i nanotvrdoću. Mikrotvrdoća i nanotvrdoća ne označavaju različite tvrdoće, već ih razlikuje skala (mikro- ili nano-skala) po kojoj se mjeri otisak utiskivača. Mjera mikrotvrdoće označava otpornost materijala na utisnuće, odnosno s aspekta dentalne medicine, otpornost materijala na okluzalne sile. Razlikujemo nekoliko različitih metoda ispitivanja mikrotvrdoće, a u dentalnoj medicini se najčešće koriste metode po Vickersu i Knoopu. U navedenim metodama, mikrotvrdoća se izračunava iz površine utisnuća i primjenjene sile (18, 19). Kod Knoopove metode, moguće su deformacije tijekom mjerenja do 20 μm u duljinu, dok je Vickersova metoda manje osjetljiva na plastične deformacije i time preciznija za materijale koji su elastični, poput SIC-a i staklohibridnih materijala (20). Idealan materijal ima najveću moguću

mikrotvrdoću jer je veća mikrotvrdoća proporcionalno povezana s većom otpornošću restaurativnog materijala na površinsko trošenje u oralnom miljeu pod utjecajem sline, hrane, pića i stalnih okluzijskih dodira (19, 21).

Prisutstvo krvi uglavnom negativno utječe na svojstva materijala te je primjerice kod kompozita, koji se najčešće koriste za direktne restauracije zuba, zabilježena smanjena čvrstoća svezivanja na tvrda zubna tkiva budući da uslijed kontaminacije krvlju nastaje tanki sloj na površini zuba koji onemogućuje adhezijskom sustavu da pravilno prođe u dentinske tubuluse te ostvari odgovarajuću vezu s tvrdim zubnim tkivom (22). Prema dostupnoj literaturi, nije ispitan utjecaj kontaminacije humanom krvlju na mehanička svojstva različitih SIC i staklohibridnih materijala.

Svrha ovog rada je bila ispitati mikrotvrdoću visokoviskoznog i smolom modificiranog staklenoinomernog cementa te staklohibridnog materijala, sa i bez zaštitnog premaza, nakon izlaganja materijala humanoj krvi odmah nakon miješanja, tijekom stvrdnjavanja materijala, te nakon stvrdnjavanja materijala.

2. HIPOTEZA

Nulta hipoteza ovog rada je da nema razlike u mikrotvrdoći visokoviskoznog i smolom modificiranog staklenoinomernog cementa te staklohibridnog materijala, sa i bez zaštitnog premaza, nakon izlaganja materijala humanoj krvi odmah nakon miješanja, tijekom stvrdnjavanja materijala, te nakon stvrdnjavanja materijala.

3. MATERIJALI I METODE RADA

Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Stomatološkog fakulteta u Zagrebu (05-PA-2-2524).

U istraživanju su korištena tri materijala u kapsuliranom obliku: 1) Fuji IX GP Extra A2 (Slika 1.); 2) Fuji II LC, A2 (Slika 2.); 3) EQUIA Forte HT, A2, sa ili bez premaza (EQUIA Forte Coat) (Slika 3.), (Tablica 1.) za ukupno 12 eksperimentalnih skupina, a za svaku skupinu je pripremljeno po 10 uzoraka (n=10).

Tablica 1. Sastav, vrsta i proizvođač materijala koji su korišteni u istraživanju

MATERIJAL	VRSTA MATERIJALA	PROIZVOĐAČ	SASTAV
Fuji II LC	Smolom modificirani SIC	GC (Tokio, Japan)	Tekućina: 24% poliakrilna kiselina; 25% destilirana voda, 35% HEMA; 6% tartarna kiselina, 0.1% kamforkinon, 2,2,4 TMHEDC*; TEGDMA*. Prah: fluoroalumosilikatno staklo
Fuji IX GP Extra	Visokoviskozni SIC	GC (Tokio, Japan)	Tekućina: 50% destilirana voda, 40% poliakrilna i tartarna kiselina, 10% polibazična karboksilna kiselina Prah: 95% fluorosilikatno staklo, 5% poliakrilna kiselina
EQUIA Forte HT	Staklohibridni materijal	GC (Tokio, Japan)	Tekućina: 40%-tna vodena otopina poliakrilne kiseline Prah: 95% fluorosilikatno staklo, 5% poliakrilna kiselina
EQUIA Forte Coat	Niskoviskozna i nanopunjena smola	GC (Tokio, Japan)	40-50% metil metakrilat 10-15% koloidna silika 0.09% kamforkinon 20-40% uretan metakrilat 1-5% fosfatni esterski monomer

*2,2,4 TMHEDC: engl. 2,2,4 trimethyl hexamethylene dicarbonate, hrv. 2,2,4 trimetil heksametilen dikarbonat, TEGDMA: engl. triethylene glycol dimethacrylate, hrv. trietilen glikol dimetakrilat



Slika 1. Fuji IX (GC, Tokio, Japan)



Slika 2. Fuji II LC (GC, Tokio, Japan)



Slika 3. EQUIA Forte HT Fil i EQUIA Forte Coat (GC, Tokio, Japan)

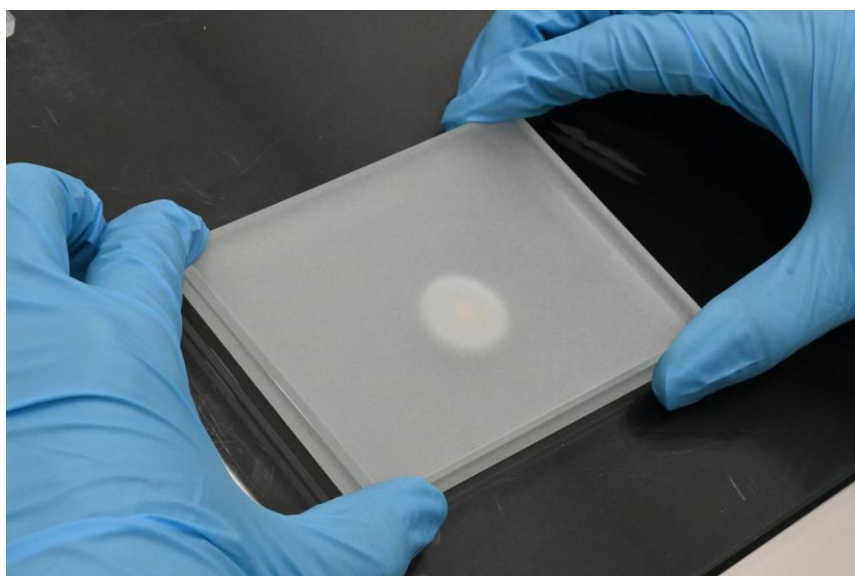
Ukupno četiri kontrolne skupine (1. Fuji IX GP Extra, 2. Fuji II LC, 3. EQUIA Forte HT i 4. EQUIA Forte HT + EQUIA Forte Coat) su pripremljene tako da su svi materijali zamiješani prema uputama proizvođača te su istisnuti u posebno izrađene teflonske kalupe (Slika 4.) s otvorima za postavljanje materijala promjera 5 mm i visine 2 mm. Kalupi su prilikom istiskivanja materijala bili položeni na staklenoj podlozi, a nakon što se u svaki kalup istisnuo materijal u blagom suvišku (Slika 5.), na kalupe s materijalom je postavljena staklena pločica, uz primjenu umjerene sile, kako bi se osigurala dobra kondenzacija materijala i ravna površina uzorka (Slika 6.).



Slika 4. Teflonski kalupi

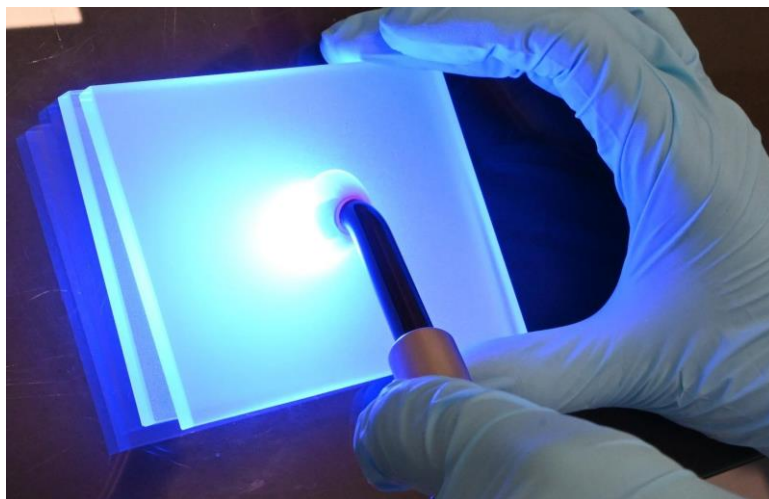


Slika 5. Istiskivanje zamiješanog materijala iz kapsule u teflonski kalup na staklenoj podlozi

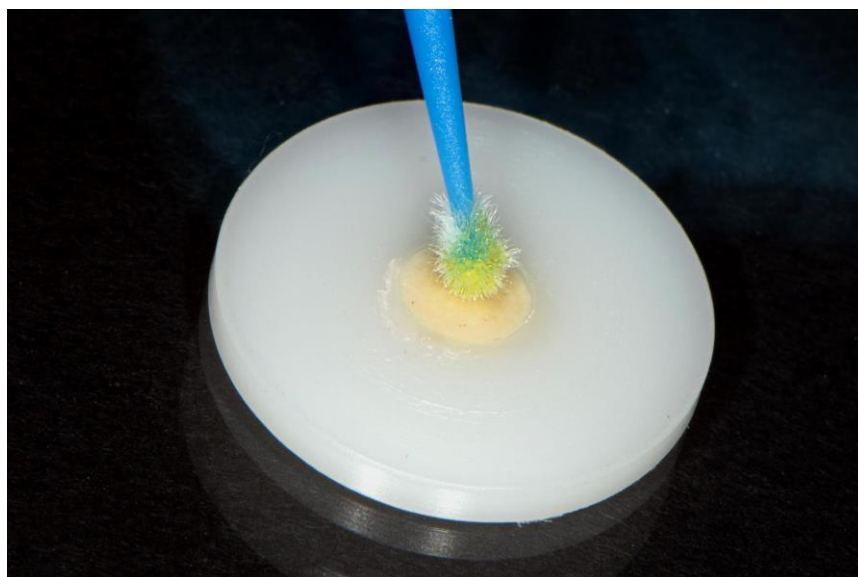


Slika 6. Kondenzacija materijala staklenom pločicom

U skupini Fuji II LC, nakon postavljanja materijala u teflonske kalupe, materijal je polimeriziran 20 sekundi sa svake strane polimerizacijskom lampom D-Light Pro (GC, Tokio, Japan, 1400 mW/cm²) (Slika 7.). Nakon stvrdnjavanja materijala u skupini EQUIA Forte HT s premazom (EQUIA Forte Coat), površina uzorka u kalupu je s obje strane premazana s EQUIA Forte Coat-om (Slika 8.) te je premaz polimeriziran 20 sekundi sa svake strane polimerizacijskom lampom D-Light Pro (GC, Tokio, Japan, 1400 mW/cm²) (Slika 9.). Svi uzorci su nakon stvrdnjavanja stavljeni u plastične posude u fiziološku otopinu s fosfatnim puferom (engl. phosphate-buffered saline, PBS).



Slika 7. Polimerizacija Fuji II LC



Slika 8. Premazivanje uzorka EQUIA Forte HT EQUIA Forte Coat-om



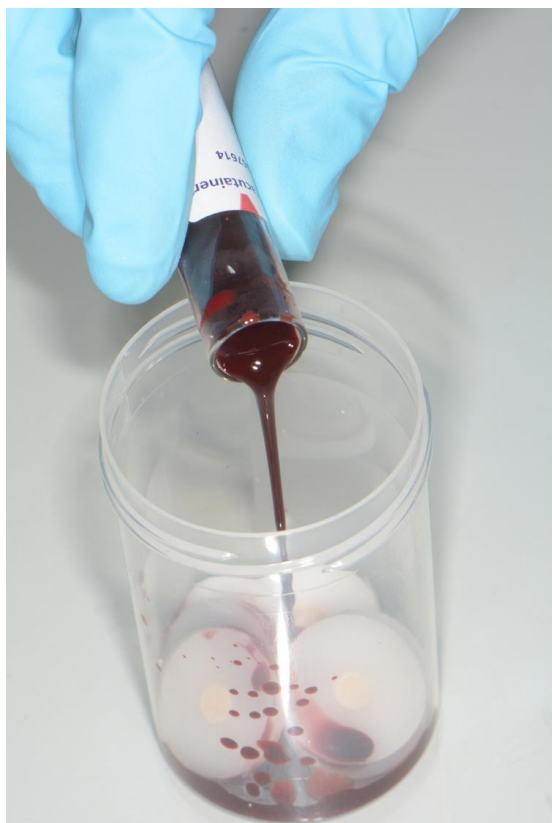
Slika 9. Polimerizacija EQUIA Forte Coat-a

Humana krv za potrebe istraživanja dobivena je dobrovoljnim davanjem krvi jednog od istraživača, a krv je izvadila kvalificirana osoba, medicinski djelatnik (Slika 10.).



Slika 10. Izvađena humana krv

Iduće četiri skupine su bile istovjetne kontrolnim skupinama te su pripremljene na prethodno opisani način, međutim, nakon stvrdnjavanja materijala, svi uzorci su postavljeni u plastične posudice s humanom krvlju (Slike 11. i 12.), koja je izvađena neposredno nakon pripreme uzoraka, tijekom 10 minuta nakon čega su uzorci isprani destiliranom vodom te su stavljani u plastične posude u PBS (eksperimentalne skupine: 5. Fuji IX GP Extra+krv nakon stvrdnjavanja, 6. Fuji II LC +krv nakon stvrdnjavanja, 7. EQUIA Forte HT+krv nakon stvrdnjavanja i 8. EQUIA Forte HT + EQUIA Forte Coat+krv nakon stvrdnjavanja).

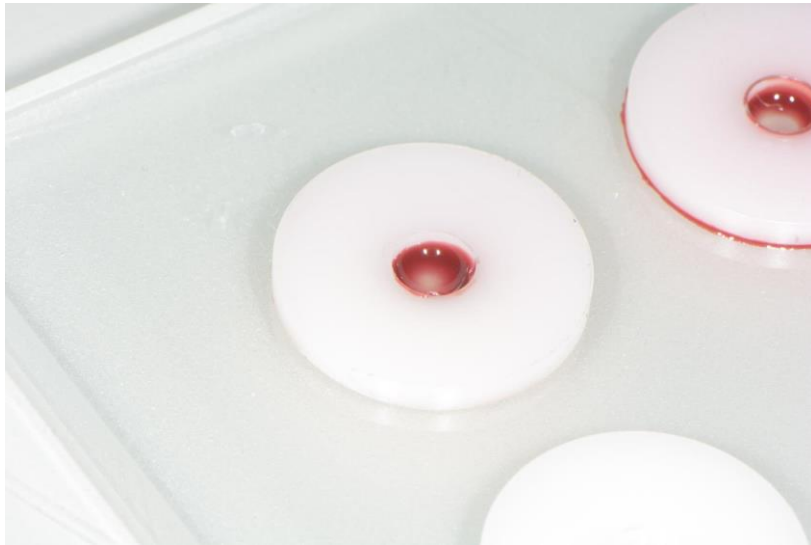


Slika 11. Ulijevanje humane krvi u plastičnu posudu



Slika 12. Uzorci u plastičnoj posudi s humanom krvlju

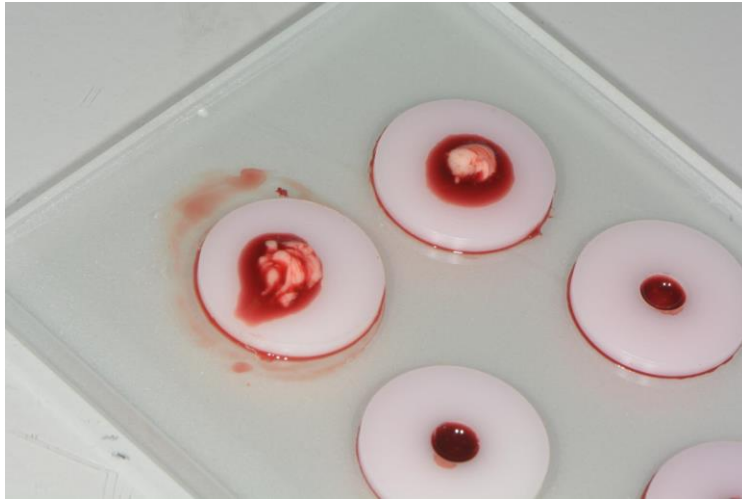
Posljednje četiri eksperimentalne skupine (9. Fuji IX GP Extra+krv tijekom stvrdnjavanja, 10. Fuji II LC +krv tijekom stvrdnjavanja, 11. EQUIA Forte HT+krv tijekom stvrdnjavanja i 12. EQUIA Forte HT + EQUIA Forte Coat+krv tijekom stvrdnjavanja) su pripremljene na način da je na staklenu podlogu na koje su kasnije postavljani teflonski kalupi, u koje su istisnuti zamiješani materijali, postavljena humana krv (Slika 13.) kao i na površinu samog materijala odmah nakon istiskivanja istog u teflonske kalupe (Slike 14. i 15.). Na kalupe s materijalom je postavljena staklena pločica, uz primjenu umjerene sile, kako bi se osigurala dobra kondenzacija materijala i ravna površina uzorka. U skupini Fuji II LC, nakon postavljanja materijala u teflonske kalupe, materijal je polimeriziran 20 sekundi sa svake strane polimerizacijskom lampom D-Light Pro (GC, Tokio, Japan, 1400 mW/cm²).



Slika 13. Postavljena humana krv u teflonske kalupe na staklenoj podlozi

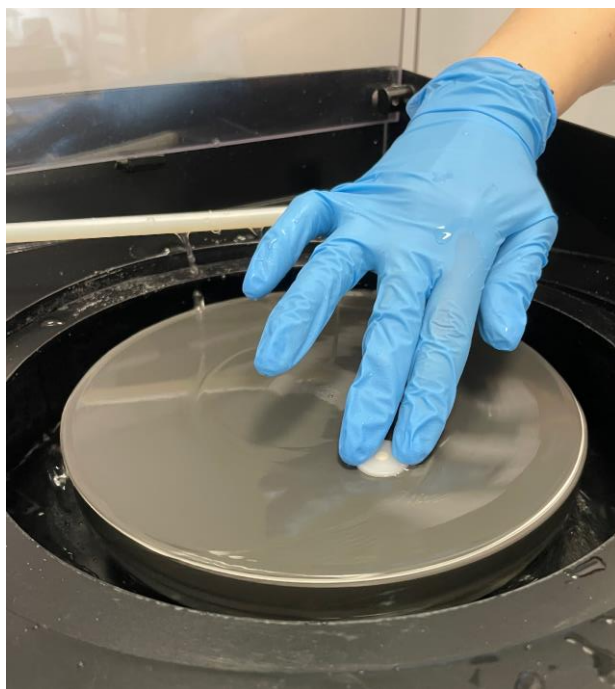


Slika 14. Istiskivanje zamiješanog materijala iz kapsule u teflonski kalup s humanom krvju na staklenoj podlozi



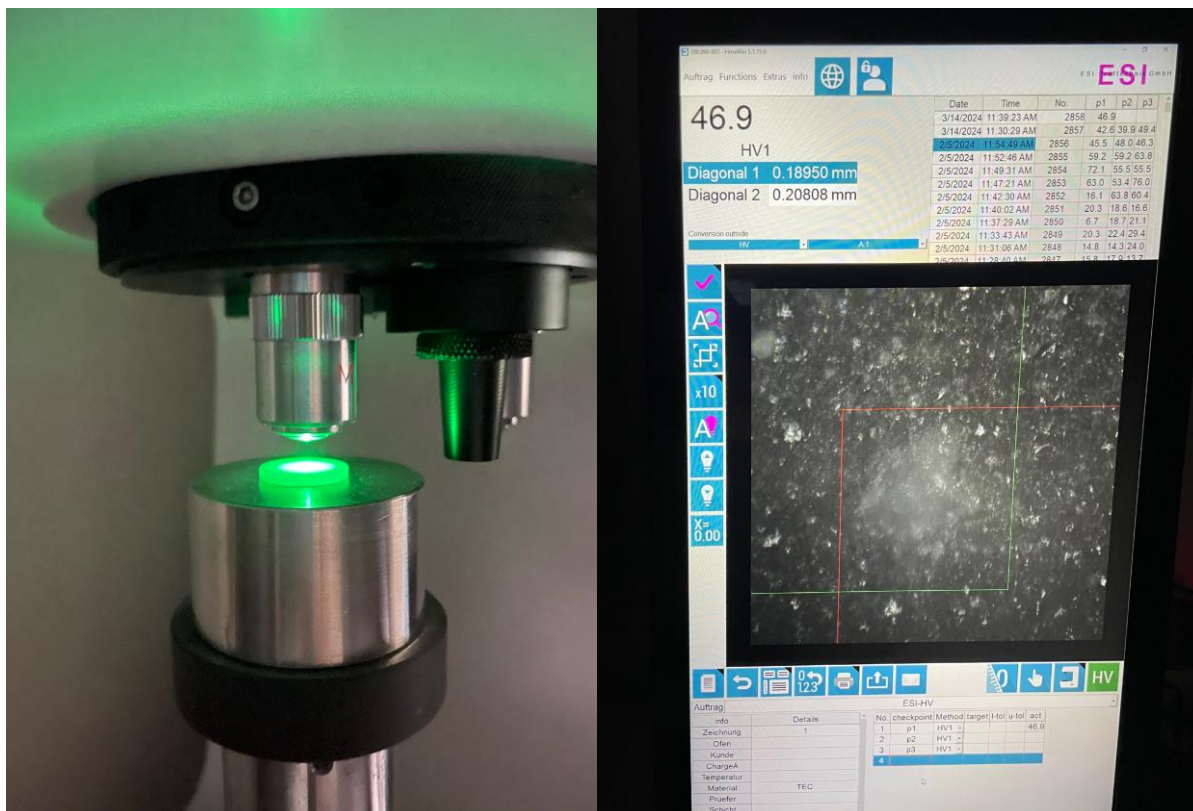
Slika 15. Postavljena humana krv na površini materijala

Nakon 10 minuta, svi uzroci su isprani destiliranom vodom. U skupini EQUIA Forte HT s premazom (EQUIA Forte Coat), površina uzorka u kalupu je s obje strane premazana s EQUIA Forte Coat-om te je premaz polimeriziran 20 sekundi sa svake strane polimerizacijskom lampom D-Light Pro (GC, Tokio, Japan, 1400 mW/cm²). Svi uzorci su zatim stavljeni u plastične posude, u PBS. Nakon 7 dana inkubacije na 37°C u inkubatoru (Nuve, ES 120, Ankara, Turska) u PBS-u, uzorci u teflonskim kalupima polirani su brusnim papirom, od grubljeg prema finijem u uređaju za poliranje (Minitech 250, Presi, Francuska) (Slika 16.).



Slika 16. Poliranje uzorka brusnim papirom u uređaju za poliranje

Mikrotvrdoća uzoraka je izmjerena u Vickers uređaju za mjerenje mikrotvrdoće (KB Prüftechnik GmbH, Hochdorf-Assenheim, Njemačka), (Slika 17.). Dijamantni vrh u obliku piramide korišten je za primjenu pritiska od 1 kg tijekom 10 sekundi. Na svakom ispitivanom uzorku, postupak mjerenja mikrotvrdoće se proveo pet puta te je time na svakom uzorku napravljeno pet udubina dijamantnim vrhom Vickers uređaja te je izmjerena mikrotvrdoća po Vickersu izražena u HV (engl. hardness Vickers, hrv. oznaka za tvrdoću po Vickersu).



Slika 17. Mjerenje mikrotvrdoće po Vickersu

Nakon izmjerene mikrotvrdoće svih uzoraka, isti su posebno zapakirani za proces termocikliranja. Za pakiranje uzoraka, korišten je adicijski silikon (Elite HD+ Putty Soft, Zhermack, Badia Polesine (RO), Italija) formiran u valjak u koji su postavljeni uzorci, a zatim je sve omotano u medicinsku gazu te je svaka skupina uzoraka označena vrpcom u određenoj boji kako bi ih se kasnije moglo razlikovati (Slika 18.).



Slika 18. Uzorci pripremljeni za termocikliranje

Za termocikliranje korišten je SD Mechatronik Thermocycler (Feldkirchen-Westerham, Danska) (Slika 19.). U uređaju za termocikliranje, simulirano je starenje materijala na način da su uzorci naizmjenice potapani u vruću ($55\text{ }^{\circ}\text{C}$) i hladnu ($5\text{ }^{\circ}\text{C}$) vodenu kupku u vremenskom razdoblju od 30 s u svakoj, tijekom 10 000 takvih ciklusa. Nakon termocikliranja, uzorcima je ponovno izmjerena mikrotvrdoća po Vickersu prema prethodno opisanom postupku.



Slika 19. Uređaj za termocikliranje s uzorcima

Statistička analiza provedena je parametrijskim metodama, nakon što je Kolmogorov-Smirnov testom utvrđeno da distribucije zavisne varijable ne odstupaju statistički značajno od normalne distribucije. Vrijednosti zavisne varijable po skupinama prikazane su pomoću aritmetičke sredine i standardne devijacije, a razlike među skupinama testirane su trosmjernom analizom varijance. Kod statistički značajnih razlika, razlike između pojedinih skupina uspoređene su post hoc Scheffeovim testom. Razina statističke značajnosti je bila postavljena na 5%.

4. REZULTATI

Kod kontrolnih skupina, prije termocikliranja, najveća mikrotvrdoća izmjerena je za EQUIA Forte HT + EQUIA Forte Coat (70.71 ± 8.79), statistički značajno veća u usporedbi s ostalim materijalima ($p=0.003$ za Fuji IX GP Extra, $p<0.001$ za Fuji II LC i EQUIA Forte HT), (Tablica 2.). Nešto manja mikrotvrdoća zabilježena je za Fuji IX GP Extra (64.23 ± 9.66), statistički značajno veća u usporedbi s dva materijala s najmanjom mikrotvrdoćom Equia Forte HT (48.60 ± 9.45) i Fuji II LC (45.63 ± 5.22), ($p<0.001$), između kojih nije bilo statistički značajne razlike ($p=0.383$), (Tablica 2.). Nakon termocikliranja, statistički značajno najveća mikrotvrdoća kod kontrolnih skupina je izmjerena ponovno za EQUIA Forte HT + EQUIA Forte Coat (68.57 ± 7.65), ($p<0.001$), (Tablica 2.). Mikrotvrdoća EQUIA Forte HT i Fuji IX GP Extra nije bila statistički značajno različita ($p=0.911$) dok je za Fuji II LC izmjerena statistički značajno najmanja mikrotvrdoća (49.66 ± 8.01), ($p<0.001$), (Tablica 2.). Razlika u mikrotvrdoći ispitanih materijala ovisno o termocikliranju je ukupno statistički značajna ($p<0.001$), no kod materijala EQUIA Forte HT i Fuji II LC mikrotvrdoća je nakon termocikliranja bila statistički značajno veća ($p<0.001$), dok kod materijala EQUIA Forte HT+EQUIA Forte Coat i Fuji IX GP Extra nije bilo statistički značajne razlike u mikrotvrdoći prije i nakon termocikliranja ($p<0.05$), (Tablica 2.).

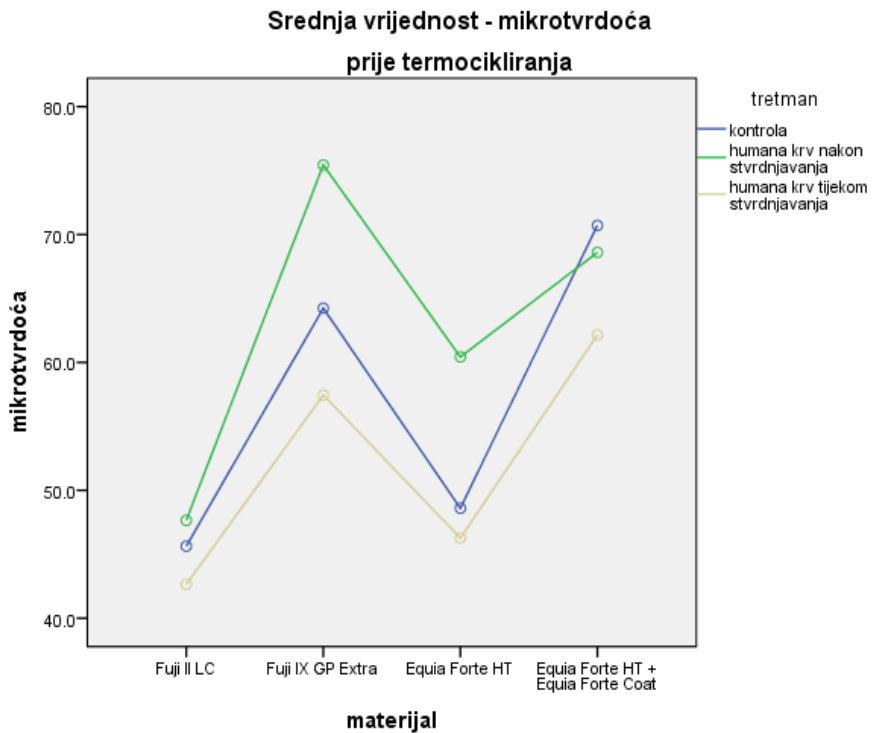
Kad su se u eksperimentalnim skupinama materijali izložili humanoj krvi, tijekom i nakon stvrdnjavanja materijala, a prije termocikliranja, za Fuji II LC razlike u izmjerenoj mikrotvrdoći kod uzoraka koji nisu izloženi humanoj krvi te onih koji su izloženi humanoj krvi nakon stvrdnjavanja nisu bile statistički značajne ($p>0.05$) dok uzorci izloženi humanoj krvi tijekom stvrdnjavanja imaju statistički značajno nižu mikrotvrdoću (42.65 ± 4.21), ($p=0.01$), (Tablica 2., Slika 20.). Za Fuji IX GP Extra, razlike kod uzoraka prije termocikliranja su bile statistički značajne, u smislu da je mikrotvrdoća kod uzoraka izloženih humanoj krvi tijekom stvrdnjavanja bila statistički značajno manja (57.45 ± 8.39), ($p<0.001$ za sve usporedbe), a mikrotvrdoća kod uzoraka izloženih humanoj krvi nakon stvrdnjavanja statistički značajno veća (75.43 ± 5.57) od vrijednosti izmjerene u kontrolnoj skupini ($p<0.01$), (Tablica 2., Slika 20.). Kod EQUIA Forte HT statistički značajno najveća mikrotvrdoća je izmjerena kod uzoraka izloženih krvi nakon stvrdnjavanja (60.42 ± 7.40), ($p<0.001$), dok nije bilo statistički značajne razlike u mikrotvrdoći kod uzoraka kontrolne skupine i uzoraka izloženih humanoj krvi tijekom stvrdnjavanja ($p>0.05$), (Tablica 2., Slika 20.). Kod EQUIA Forte HT+Equia Forte Coat, izlaganje uzoraka humanoj krvi tijekom stvrdnjavanja negativno je utjecalo na mikrotvrdoću te je izmjerena statistički manja mikrotvrdoća (62.15 ± 7.79), ($p<0.001$) u usporedbi s uzorcima iz kontrolne skupine i skupine izlaganja humanoj krvi nakon stvrdnjavanja, između kojih nije bilo statistički značajne razlike ($p>0.05$), (Tablica 2., Slika 20.). Kada se usporedbe materijali

međusobno u uvjetima prisutnosti humane krvi tijekom stvrđnjavanja prije termocikliranja, razlike u izmjerenoj mikrotvrdoći između materijala Fuji II LC (42.65 ± 4.21) i Equia Forte HT (46.26 ± 7.51) nisu statistički značajne ($p > 0.05$), dok su razlike u mikrotvrdoći za sve ostale materijale bile statistički značajne ($p < 0.001$) (Tablica 2, Slika 20.). Kad se usporedbe materijali međusobno u uvjetima prisutnosti krvi nakon stvrđnjavanja, prije termocikliranja, razlike u mikrotvrdoći su bile statistički značajne za sve ispitivane materijale ($p < 0.001$), (Tablica 2., Slika 20.).

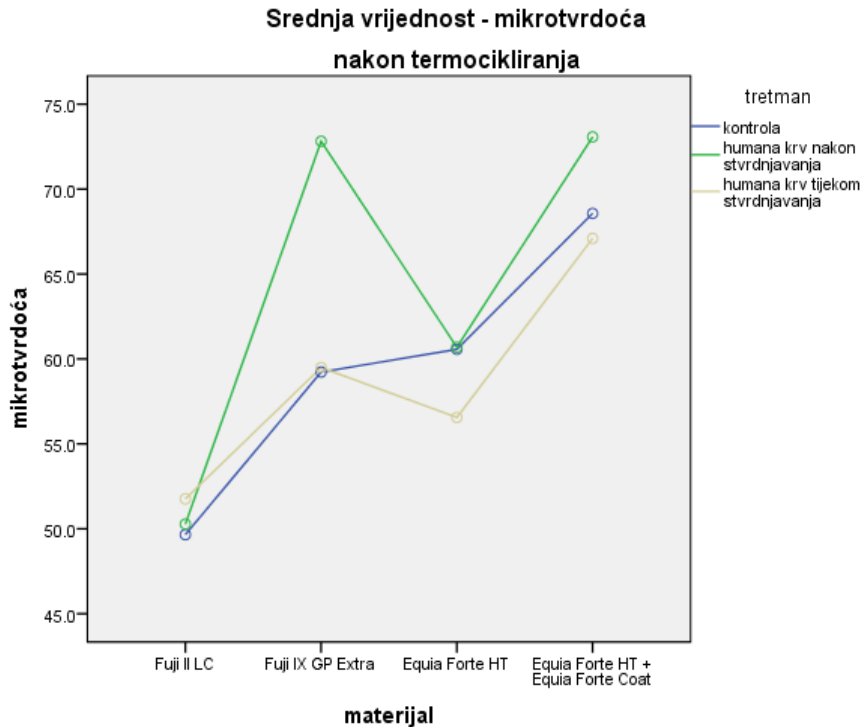
Kada se odnos među materijalima i tretmanima usporedi u uvjetima prije i nakon termocikliranja, vidljivo je da termocikliranje povećava razlike između Fuji IX GP Extra i EQUIA Forte HT+EQUIA Forte Coat u skupinama kod kojih je krv dodana nakon stvrđnjavanja i ostalih skupina, te smanjuje razlike za materijal EQUIA Forte HT kod kojeg je skupina u kojoj je krv dodana nakon stvrđnjavanja istovjetna ostalim skupinama (Tablica 2., Slike 20. i 21.). Osim toga, termocikliranje smanjuje razlike u tretmanu za Fuji II. Preciznije, u skupini prije termocikliranja (Slika 20.) razlike u odnosu na tretman za Fuji II su statistički značajne, dok nakon termocikliranja, razlike među skupinama nisu bile statistički značajne ($p > 0.05$), (Tablica 2., Slika 21.). Za Fuji IX GP Extra, nakon termocikliranja, nema statistički značajne razlike između kontrolne skupine i one koja je izložena krvi tijekom stvrđnjavanja ($p = 0.984$), (Tablica 2., Slika 21.). Za EQUIA Forte HT, nakon termocikliranja, nema statistički značajnih razlika između skupina ($p > 0.05$), (Tablica 2., Slika 21.). Za EQUIA Forte HT+EQUIA Forte Coat nakon termocikliranja, razlika u mikrotvrdoći je statistički značajna između skupine u kojoj je krv dodana nakon stvrđnjavanja i ostalih skupina ($p = 0.001$ za skupinu izloženu krvi tijekom stvrđnjavanja, a $p = 0.013$ za kontrolnu skupinu).

Tablica 2. Srednje vrijednosti i standardne devijacije za mikrotvrdoću za sve skupine prije i nakon termocikliranja (za svaku skupinu je provedeno ukupno 50 mjerenja na 10 uzoraka)

MATERIJAL	TRETMAN	TERMOCIKLIRANJE	Srednja vrijednost	Standardna devijacija
Fuji II LC	kontrola	<i>prije</i>	45.63	5.22
		<i>nakon</i>	49.66	8.01
	krv nakon stvrdnjavanja	<i>prije</i>	47.65	4.97
		<i>nakon</i>	50.28	7.49
	krv tijekom stvrdnjavanja	<i>prije</i>	42.65	4.21
		<i>nakon</i>	51.76	6.36
Fuji IX GP Extra	kontrola	<i>prije</i>	64.23	9.66
		<i>nakon</i>	59.23	7.45
	krv nakon stvrdnjavanja	<i>prije</i>	75.43	5.57
		<i>nakon</i>	72.81	7.36
	krv tijekom stvrdnjavanja	<i>prije</i>	57.45	8.39
		<i>nakon</i>	59.49	7.36
EQUIA Forte HT	kontrola	<i>prije</i>	48.60	9.45
		<i>nakon</i>	60.57	12.63
	krv nakon stvrdnjavanja	<i>prije</i>	60.42	7.40
		<i>nakon</i>	60.69	7.55
	krv tijekom stvrdnjavanja	<i>prije</i>	46.26	7.51
		<i>nakon</i>	56.56	7.16
EQUIA Forte HT+ EQUIA Forte Coat	kontrola	<i>prije</i>	70.71	8.79
		<i>nakon</i>	68.57	7.65
	krv nakon stvrdnjavanja	<i>prije</i>	68.60	6.59
		<i>nakon</i>	73.07	7.85
	krv tijekom stvrdnjavanja	<i>prije</i>	62.15	7.79
		<i>nakon</i>	67.10	7.15



Slika 20. Srednja vrijednost mikrotvrdoće ispitivanih materijala prije termocikliranja ovisno o tretmanu: kontrola, izlaganje humanoј krvi nakon i tijekom stvrdnjavanja



Slika 21. Srednja vrijednost mikrotvrdoće ispitivanih materijala nakon termocikliranja ovisno o tretmanu: kontrola, izlaganje humanoј krvi nakon i tijekom stvrdnjavanja

5. RASPRAVA

Dugotrajnost i uspješnost modernih restaurativnih materijala ovisi o njihovom preživljenju u oralnom miljeu (23). U usnoj šupljini, restaurativni materijali su izloženi silama žvakanja, silama koje se javljaju pri različitim parafunkcijama, dijetetskim navikama, vlazi, promjenama temperature, a svi ovi nabrojani čimbenici mogu utjecati na dugovječnost restauracija (24). Najbolji način za testiranje uspješnosti i dugotrajnosti restaurativnih materijala u dentalnoj medicini su kliničke studije (25, 26). Međutim, provođenje kontroliranih *in vivo* istraživanja je vremenski i financijski zahtjevno te, ukoliko ista nisu pažljivo isplanirana i ne slijede sve suvremene smjernice za dizajn i provođenje ispitivanja te kriterije za evaluaciju direktnih i indirektnih restauracija, dobiveni rezultati mogu imati ograničenu vjerodostojnost i ne mogu se uključiti u meta analizu koja može dati objektivnu i kvantitativnu analizu rezultata dostupnih kliničkih studija (25). *In vitro* istraživanja imaju prednost da se mogu provesti brzo, na većem broju uzoraka, moguće je donekle simulirati kliničke uvjete te time dobiti podatke o potencijalnom ponašanju ispitivanih materijala *in vivo*. Svi restaurativni materijali podvrgnuti su različitim laboratorijskim ispitivanjima, a uvijek je važno ispitati mehanička svojstva i interakciju s tvrdim zubnim tkivima. Mikrotvrdoća materijala je svojstvo koje je važno ispitati jer dobiveni rezultati daju uvid u otpornost materijala na abraziju kada se restauracija postavlja u područjima s velikim žvačnim opterećenjem (27). U ovom istraživanju, ispitana je *in vitro* mikrotvrdoća visokoviskoznog (Fuji IX GP Extra) i smolom modificiranog staklenoinomernog cementa (Fuji II LC) te staklohibridnog materijala (EQUIA Forte HT), sa i bez zaštitnog premaza (EQUIA Forte Coat), nakon izlaganja materijala humanoj krvi odmah nakon miješanja, tijekom stvrdnjavanja materijala, te nakon stvrdnjavanja materijala. Nulta hipoteza da nema razlike u mikrotvrdoći testiranih materijala pri izlaganju humanoj krvi je odbačena budući da su rezultati pokazali statistički značajnu razliku u mikrotvrdoći spomenutih materijala ovisno o njihovoj kontaminaciji humanom krvlju tijekom ili nakon stvrdnjavanja materijala.

Kod kontrolnih skupina, koje nisu bile izložene humanoj krvi, najveća mikrotvrdoća je izmjerena za staklohibridni materijal sa zaštitnim premazom (EQUIA Forte HT+EQUIA Forte Coat). Dobiveni rezultat je donekle očekivan budući da staklohibridni materijali imaju u svom sastavu visoko reaktivne staklene čestice koje su ravnomjerno raspoređene u praškastoj komponenti materijala, a molekularna težina poliakrilne kiseline je optimizirana čime je omogućena veća dostupnost karboksilnih skupina i time učinkovitija acido-bazna reakcija, stvaranje polisoli i umrežavanje unutar cementa. Moshaverinia i sur. (28) su također dokazali da staklohibridni materijal ima veću mikrotvrdoću u usporedbi s visokoviskoznim SIC-om (Fuji IX GP) što je u skladu s rezultatima ovog istraživanja. Najmanja mikrotvrdoća je zabilježena za staklohibridni materijal bez zaštitnog premaza

(EQUIA Forte HT) i smolom modificirani SIC (Fuji II LC). Istraživanje Bala i sur. (29) je također pokazalo da je smolom modificirani SIC imao najmanju mikrotvrdoću u usporedbi s ostalim SIC materijalima. Manja mikrotvrdoća staklohibridnog materijala bez zaštitnog premaza nije iznenađujuća budući da sloj debljine 35 do 40 μm istog, koji infiltrira pore i nepravilnosti na površini restauracije, štiti materijal od vlage i pruža dodatnu otpornost na trošenje u ranim fazama. Alqasabi i sur. (30) i Handoko i sur. (31) utvrdili su da nanopunjeni zaštitni premaz, istovjetan onom korištenom u ovom istraživanju, značajno poboljšava mikrotvrdoću staklohibridnog materijala što je u skladu s rezultatima ovog istraživanja. Zanimljivo je da su Faraji i sur. (32) i Ryu i sur. (33) objavili oprečne rezultate prema kojima zaštitni premaz smanjuje površinsku tvrdoću u usporedbi sa SIC i staklohibridnim materijalima bez premaza. Razlike u dobivenim rezultatima se mogu objasniti time što su, za razliku od Faraji i sur. (32) i Ryu i sur. (33), u ovom te istraživanjima Alqasabi i sur. (30) i Handoko i sur. (31), pripremljeni uzorci podvrgnuti postupku poliranja kako bi se izmjerila mikrotvrdoća samog materijala, a ne premaza koji ostaje u debljem sloju na površini materijala ako se uzorci ne poliraju, a premaz je često mekši od samog materijala.

Kontaminacija krvlju restaurativnih materijala je moguća zbog krvarenja gingive, mekih tkiva usne šupljine ili zubne pulpe (34, 35). Zbog visokog sadržaja proteina u krvi, na površini tvrdih zubnih tkiva stvara se film, a makromolekule poput fibrinogena i trombocita mogu onemogućiti adheziju materijala, a sve navedeno utječe negativno na čvrstoću svezivanja restaurativnih materijala na caklinu i dentin (36). Izlaganje materijala krvi može utjecati i na samo stvrdnjavanje materijala i time njegova mehanička svojstva. Krv može utjecati negativno na stvrdnjavanje zbog adhezije proteina krvi na mjesta nukleacije kristala te zbog krvnih proteina koji imaju tendenciju navlačenja zraka i time veće poroznosti materijala kada je isti izložen krvi (37, 38). Rezultati ovog istraživanja su pokazali da kada su se materijali izložili humanoj krvi, tijekom i nakon stvrdnjavanja materijala, a prije termocikliranja, za Fuji II LC nije bilo razlike u izmjerenoj mikrotvrdoći kod uzoraka koji nisu izloženi humanoj krvi te onih koji su izloženi humanoj krvi nakon stvrdnjavanja dok su uzorci izloženi humanoj krvi tijekom stvrdnjavanja imali značajno manju mikrotvrdoću. Općenito, izlaganje SIC-a vodi dovodi do oslobađanja i gubitka iona što može dovesti do negativnih promjena u mehaničkim svojstvima (39). Budući da se smolom modificirani SIC stvrdnjavaju kroz svjetlosnu polimerizaciju i kemijsku acido-baznu reakciju, polimerizacija HEMA-e u sastavu štiti materijal i nastanak poliakrilatnih soli od problema s ravnotežom vode i stabilizira cement (40, 41), kao što je bio slučaj za kontrolnu skupinu i skupinu koja je izložena humanoj krvi nakon svjetlosne polimerizacije u ovom istraživanju. Međutim, ukoliko je smolom modificiran SIC izložen krvi tijekom stvrdnjavanja, odnosno prije svjetlosne polimerizacije, onda nema zaštitnog učinka polimerizacije monomera, tzv. "efekta kišobrana", jer dolazi do kontaminacije materijala vodom,

koja čini 90% sastava krvne plazme, prije nastanka kalcij i aluminij poliakrilatnih soli. Za Fuji IX GP Extra, razlike kod uzoraka prije termocikliranja su bile statistički značajne, u smislu da je najmanja mikrotvrdoća izmjerena za uzorke izložene humanoj krvi tijekom stvrdnjavanja, a najveća mikrotvrdoća je zabilježena kod uzoraka izloženih humanoj krvi nakon stvrdnjavanja. I kod EQUIA Forte HT najveća mikrotvrdoća je izmjerena kod uzoraka izloženih krvi nakon stvrdnjavanja, ali nije bilo statistički značajne razlike u mikrotvrdoći kod uzoraka kontrolne skupine i uzoraka izloženih humanoj krvi tijekom stvrdnjavanja. Shimada i sur. (42) pokazali su da SIC i staklohibridi prolaze sekundarnu maturaciju ukoliko na površini materijala nije prisutan premaz zbog „upijanja“ kalcijevih iona iz sline, a kao rezultat toga, dolazi do značajnog povećanja površinske mikrotvrdoće ispuna. Sekundarna maturacija nije zabilježena za materijale koji su bili čuvani u destiliranoj vodi s obzirom da ista nema kalcijeve ione (42). U ovom istraživanju, uzorci su pohranjeni u PBS koja, slično destiliranoj vodi, nema kalcijeve ione u sastavu. Međutim, moguće objašnjenje zašto je mikrotvrdoća Fuji IX GP Extra i EQUIA Forte HT bila veća kod uzoraka koji su izloženi krvi nakon stvrdnjavanja je da krv u svom sastavu ima kalcij i to otprilike 1% svih zaliha kalcija u tijelu, a dio tog kalcija je vezan na proteine dok je dio „slobodni“ kalcij tj. ioni kalcija koji onda, slično kao u slučaju kalcija iz sline, mogu dovesti do sekundarne maturacije ispitivanih materijala i time povećati njihovu mikrotvrdoću. Kod EQUIA Forte HT+Equia Forte Coat, izlaganje uzoraka humanoj krvi tijekom stvrdnjavanja negativno je utjecalo na mikrotvrdoću, a nije bilo razlike između kontrolne skupine i skupine izlaganja humanoj krvi nakon stvrdnjavanja. Rezultat da izlaganje staklohibridnog materijala s premazom humanoj krvi nakon stvrdnjavanja nije povećao mikrotvrdoću materijala moguće je objasniti time da su prethodna istraživanja pokazala da su uzorci premazani EQUIA Forte Coat-om pokazali najniže vrijednosti apsorpcije vode (30, 43) i da takvo učinkovito brtvljenje površine materijala također potencijalno onemogućuje i izmjenu iona, odnosno iona kalcija iz krvi koji mogu dovesti do sekundarne maturacije materijala. Ova tvrdnja ima uporište i u istraživanju koje je pokazalo da je količina otpuštenih iona fluora značajno manja kod staklohibridnog materijala s premazom u usporedbi s onima bez premaza (44), jer nanopunjeni premaz vjerojatno limitira prijenos svih iona.

Naročito je korisno umjetno ostariti materijale kako bi se mogli predvidjeti njihovo ponašanje i svojstva nakon dužeg vremenskog razdoblja. Jedan od načina za starenje materijala je termocikliranje koje simulira termalni stres kojem su izloženi restaurativni materijali i zubi pri unosu toplih i hladnih tekućina i hrane. S obzirom na hipotezu da se promjene temperature u usnoj šupljini događaju ciklički 20 do 50 puta dnevno, 1999. godine je predloženo da 10 000 termičkih ciklusa odgovara 1 godini kliničke funkcije (45). Stoga su i u ovom istraživanju restaurativni materijali izloženi istom broju termičkih ciklusa kako bi se ostvarilo što duže starenje materijala.

Rezultati ovog istraživanja su pokazali da je nakon termocikliranja za kontrolne skupine, ponovno najveću mikrotvrdoću imao staklohibridni materijal sa zaštitnim premazom (EQUIA Forte HT+EQUIA Forte Coat), dok je Fuji II imao najmanju mikrotvrdoću. Između Fuji IX GP Extra i EQUIA Forte HT nije bilo razlike u mikrotvrdoći nakon termocikliranja. U odnosu na rezultate dobivene prije starenja uzoraka, EQUIA Forte HT je nakon termocikliranja imao veću mikrotvrdoću što se može objasniti maturacijom materijala budući da SIC materijali koji se stvrđavaju acidobaznom reakcijom imaju više izraženo poboljšanje svojih mehanička svojstva tijekom vremena (46), za razliku od materijala koji imaju dodanu smolastu matricu u sastavu, poput Fuji II LC materijala, koji je i dalje imao najmanju mikrotvrdoću i nakon termocikliranja.

Nakon termocikliranja, za Fuji II LC i EQUIA Forte HT nije bilo razlike u mikrotvrdoći kontrolne skupine i onih koje su bile izložene humanoj krvi tijekom i nakon stvrđavanja. Za Fuji IX GP Extra, nakon termocikliranja, nije bilo razlike između kontrolne skupine i one koja je izložena krvi tijekom stvrđavanja, a najveću mikrotvrdoću su imali uzroci izloženi krvi nakon stvrđavanja. Za EQUIA Forte HT+EQUIA Forte Coat nakon termocikliranja, najveća mikrotvrdoća je zabilježena za skupinu koja je izložena humanoj krvi nakon stvrđavanja. U usporedbi s rezultatima prije termocikliranja kada je izlaganje uzoraka krvi nakon stvrđavanja imalo pozitivan utjecaj na mikrotvrdoću staklohibridnog materijala bez premaza i viskoviskoznog SIC-a, nakon termocikliranja su staklohibridni materijal s premazom i viskoviskozni SIC imali najveću mikrotvrdoću mjerenu kod uzoraka izloženih krvi nakon stvrđavanja. Moguće objašnjenje za povećanu mikrotvrdoću staklohibridnog materijala s premazom nakon termocikliranja je taj da je ipak izlaganje humanoj krvi dovelo do određenog stupnja apsorpcije vode, a time i iona kalcija te da je rezultat sekundarne maturacije materijala, koja povećava mikrotvrdoću, tek bio vidljiv s odgodom vremena, odnosno, nakon starenja uzoraka termocikliranjem.

6. ZAKLJUČCI

Prema dobivenim rezultatima ovog istraživanja, može se zaključiti da, kad materijali nisu bili izloženi humanoj krvi, najveću mikrotvrdoću prije i nakon termocikliranja je imao staklohibridni materijal sa zaštitnim premazom (EQUIA Forte HT+EQUIA Forte Coat).

Izlaganja materijala humanoj krvi tijekom stvrdnjavanja je negativno utjecalo na mikrotvrdoću smolom modificiranog SIC (Fuji II LC), ali se pokazalo da nakon starenja uzoraka nije bilo utjecaja na mikrotvrdoću spomenutog materijala nakon izlaganja humanoj krvi tijekom i nakon stvrdnjavanja.

Izlaganje materijala humanoj krvi tijekom stvrdnjavanja je negativno utjecalo na mikrotvrdoću visokoviskoznog SIC-a (Fuji IX GP Extra) dok je izlaganje humanoj krvi nakon stvrdnjavanja za isti materijal povećalo mikrotvrdoću materijala prije i nakon starenja istog materijala.

Kod staklohibridnog materijala bez zaštitnog premaza (EQUIA Forte HT), najveća mikrotvrdoća je izmjerena kod uzoraka izloženih krvi nakon stvrdnjavanja, ali nakon starenja uzoraka, izlaganje humanoj krvi tijekom i nakon stvrdnjavanja, nije utjecalo na mikrotvrdoću materijala.

Kod staklohibridnog materijala sa zaštitnim premazom (EQUIA Forte HT+EQUIA Forte Coat), izlaganje uzoraka humanoj krvi tijekom stvrdnjavanja negativno je utjecalo na mikrotvrdoću, a starenjem materijala, povećala se mikrotvrdoća nakon izlaganja humanoj krvi nakon stvrdnjavanja.

7. ZAHVALE

Najljepše zahvaljujemo našoj mentorici izv. prof. dr. sc. Anji Barabi na neizmjernoj pomoći, trudu i izdvojenom vremenu prilikom izrade ovog rada. Također joj zahvaljujemo i na pruženoj podršci i povjerenju.

Posebna zahvala doc. dr. sc. Mateju Paru na susretljivosti, pomoći i nesebičnim savjetima tijekom korištenja laboratorija.

Zahvaljujemo i izv. prof. dr. sc. Jurici Matijeviću te izv. prof. dr. sc. Evi Klarić na pomoći.

8. LITERATURA

1. Wilson AD, Kent BE. A new translucent cement for dentistry. The glass ionomer cement. *Br Dent J.* 1972;132(4):133-5.
2. Tarle Z. i sur. *Restaurativna dentalna medicina.* Zagreb: Medicinska naklada; 2019. p. 166-85.
3. Pavelić B. Staklenoionomerni cementi – provjerite i nadopunite Vaše znanje. *Sonda.* 2004;10(1):39-42.
4. McLean JW, Nicholson JW, Wilson AD. Proposed nomenclature for glass-ionomer dental cements and related materials. *Quintessence Int.* 1994;25(9):587-9.
5. Jadras M, Maršanić D, Vidas J, Brekalo Pršo I. Stakloionomerni cementi-najčešće primjenjivani cementi u dentalnoj medicini i osvrt na novu generaciju. *Sonda.* 2018;35(2):71-4.
6. Najeeb S, Khurshid Z, Zafar MS, Khan AS, Zohaib S, Nuñez Martí JM, et al. Modifications in Glass Ionomer Cements: Nano-Sized Fillers and Bioactive Nanoceramics. *Int J Mol Sci.* 2016;17(7):1134.
7. Saridena USNG, Sanka GSSJ, Alla RK, Ramaraju AV, Sajjan MC S, Mantena SR. An overview of advances in glass ionomer cements. *Int J Dent Mater.* 2022;4(4):89–94.
8. Mickenautsch S. High-viscosity glass-ionomer cements for direct posterior tooth restorations in permanent teeth: The evidence in brief. *J Dent.* 2017;55:121-3.
9. Gok Baba M, Kirzioglu Z, Ceyhan D. One-year clinical evaluation of two high-viscosity glass-ionomer cements in class II restorations of primary molars. *Aust Dent J.* 2021;66(1):32-40.
10. Burburema Neves A, Gracindo Lopes LI, Gomes Bergstrom T, Saddock Sá da Silva A, Tadeu Lopes R, de Almeida Neves A. Porosity and pore size distribution in high-viscosity and conventional glass ionomer cements: a micro-computed tomography study. *Restor Dent Endod.* 2021;46(4):e57.
11. Kielbassa AM, Oehme EP, Shakavets N, Wolgin M. In vitro wear of (resin-coated) high-viscosity glass ionomer cements and glass hybrid restorative systems. *J Dent.* 2021;105:103554.
12. Sidhu SK, Nicholson JW. A Review of Glass-Ionomer Cements for Clinical Dentistry. *J Funct Biomater.* 2016;7(3):16.
13. Khoroushi M. A discussion on how to apply resin-modified glass ionomers. *Contemp Clin Dent.* 2016;7(3):291–2.

14. Vetromilla BM, Opdam NJ, Leida FL, Sarkis-Onofre R, Demarco FF, van der Loo MPJ, et al. Treatment options for large posterior restorations: a systematic review and network meta-analysis. *J Am Dent Assoc.* 2020;151(8):614-24.
15. Brkanović S, Ivanišević A, Miletić I, Mezdić D, Jukić Krmek S. Effect of Nano-Filled Protective Coating and Different pH Environment on Wear Resistance of New Glass Hybrid Restorative Material. *Materials (Basel).* 2021;14(4):755.
16. Joshi G, Heiss M. Glass-Hybrid Technology for Long-Term Restorations. *Compend Contin Educ Dent.* 2021;42(Suppl 1):2-5.
17. Lohbauer U, Krämer N, Siedschlag G, Schubert EW, Lauerer B, Müller FA, Petschelt A, Ebert J. Strength and wear resistance of a dental glass-ionomer cement with a novel nanofilled resin coating. *Am J Dent.* 2011;24(2):124-8
18. Chuenarrom C, Benjakul P, Daosodsai P. Effect of indentation load and time on Knoop and Vickers microhardness tests for enamel and dentin. *Mater Res.* 2009;12(4):473-6.
19. Okada K, Tosaki S, Hirota K, Hume WR. Surface hardness change of restorative filling materials stored in saliva. *Dent Mater.* 2001;17(1):34-9.
20. Ben Ghorbal G, Tricoteaux A, Thuault A, Louis G, Chicot D. Comparison of conventional Knoop and Vickers hardness of ceramic materials. *J Eur Ceram Soc.* 2017;37(6):2531–5.
21. Poggio C, Viola M, Mirando M, Chiesa M, Beltrami R, Colombo M. Microhardness of different esthetic restorative materials: Evaluation and comparison after exposure to acidic drink. *Dent Res J (Isfahan).* 2018;15(3):166-72.
22. Lund RG, Da Silveira IA, Ribeiro JS, Rubin D, Peralta SL, Cuevas-Suárez CE, et al. Influence of blood contamination and decontamination procedures on bond strength of a two-step etch and rinse adhesive system. *Eur J Gen Dent.* 2019;8(3):71-5.
23. Freeman R, Varanasi S, Meyers IA, Symons AL. Effect of air abrasion and thermocycling on resin adaptation and shear bond strength to dentin for an etch-and-rinse and self-etch resin adhesive. *Dent Mater J.* 2012;31(2):180–8.
24. Cavalcanti AN, Mitsui FHO, Ambrosano GMB, Marchi GM. Influence of adhesive systems and flowable composite lining on bond strength of class II restorations submitted thermal and mechanical stresses. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2007;80(1):52–8.
25. Hickel R, Roulet JF, Bayne S, Heintze SD, Mjör IA, Peters M, et al. Recommendations for conducting controlled clinical studies of dental restorative materials. *Int Dent J.* 2007;57(5):300–2.
26. Opdam NJM, Collares K, Hickel R, Bayne SC, Loomans BA, Cenci MS, et al. Clinical studies in restorative dentistry: new directions and new demands. *Dent Mater.* 2018;34(1):1-12.

27. Yan YL, Kim YK, Kim KH, Kwon TY. Changes in degree of conversion and microhardness of dental resin cements. *Oper Dent*. 2010;35(2):203–10.
28. Moshaverinia M, Navas A, Jahedmanesh N, Shah KC, Moshaverinia A, Ansari S. Comparative evaluation of the physical properties of a reinforced glass ionomer dental restorative material. *J Prosthet Dent*. 2019;122(2):154-9.
29. Bala O, Arisu HD, Yikilgan I, Arslan S, Gullu A. Evaluation of surface roughness and hardness of different glass ionomer cements. *Euro J Dent*. 2012;6(1):79-86.
30. Alqasabi SY, Sulimany AM, Almohareb T, Alayad A, Bawazir OA. The Effect of Different Coating Agents on the Microhardness, Water Sorption, and Solubility of EQUIA Forte® HT. *Coatings*. 2024;14(6):751.
31. Handoko MW, Tjandrawinata R. Octarina. The effect of nanofilled resin coating on the hardness of glass ionomer cement. *Sci Dent J*. 2020;4(3):97.
32. Faraji F, Heshmat H, Banava S. Effect of protective coating on microhardness of a new glass ionomer cement: Nanofilled coating versus unfilled resin. *J Conserv Dent*. 2017;20(4):260-3.
33. Ryu W, Park H, Lee J, Seo H. Effect of Nano-Filled Protective Coating on Microhardness and Wear Resistance of Glass-Ionomer Cements. *J Korean Acad Pedtatric Dent*. 2019;46(2):226–32.
34. Noppawong S, Pratabsingha J, Thamsoonthorn C, Vichathai W, Saikaew P. Bond Strengths of Universal Adhesives to Dentin Contaminated with a Hemostatic Agent. *J Adhes Dent*. 2022;24(1):421–6.
35. Patel S, Hamer S. A simple guide to using dental dam. *Br Dent J*. 2021;230(10):644–50.
36. Chen AM, Ekambaram M, Li KC, Cooper PR, Mei ML. A scoping review of the influence of clinical contaminants on bond strength in direct adhesive restorative procedures. *J Dent*. 2024;145:104985.
37. Moinzadeh AT, Aznar Portoles C, Schembri Wismayer P, Camilleri J. Bioactivity Potential of EndoSequence BC RRM Putty. *J Endod*. 2016;42(4):615-21.
38. Nekoofar MH, Davies TE, Stone D, Basturk FB, Dummer PMH. Microstructure and chemical analysis of blood-contaminated mineral trioxide aggregate. *Int Endod J*. 2011;44(11):1011-8.
39. Imataki R, Shinonaga Y, Nishimura T, Abe Y, Arita K. Mechanical and Functional Properties of a Novel Apatite-Ionomer Cement for Prevention and Remineralization of Dental Caries. *Materials (Basel)*. 2019;12(23):3998.
40. Nicholson JW, Anstice HM. The physical chemistry of resin modified glass ionomers. *J Mater Sci Mater Med*. 1994;5(3):119-22.

41. Ivica A, Šalinović I, Jukić Krmek S, Garoushi S, Lassila L, Säilynoja E et al. Mechanical Properties and Ion Release from Fibre-Reinforced Glass Ionomer Cement. *Polymers (Basel)*. 2024;16(5):607.
42. Shimada Y, Hokii Y, Yamamoto K, et al. Evaluation of hardness increase of GIC restorative surface in saliva. Poster presented at: ConsEuro 2015; 2015 May 14-16; London, UK.
43. Yilmaz MN, Gul P, Kiziltunc A. Water Sorption and Solubility of a High-Viscous Glass-Ionomer Cement after the Application of Different Surface-Coating Agents. *Eur J Gen Dent*. 2020;9(3):118–21.
44. Brzović-Rajić V, Miletić I, Gurgan S, Peroš K, Verzak Ž, Ivanišević-Malčić A. Fluoride Release from Glass Ionomer with Nano Filled Coat and Varnish. *Acta Stomatol Croat*. 2018;52(4):307-13.
45. Gale MS, Darvell BW. Thermal cycling procedures for laboratory testing of dental restorations. *J Dent*. 1999;27(2):89–99.
46. Nicholson JW. Maturation processes in glass-ionomer dental cements. *Acta Biomater Odontol Scand*. 2018;4(1):63-71.

9. SAŽETAK

UTJECAJ KONTAMINACIJE HUMANOM KRVLJU NA MIKROTVRDOĆU STAKLENOIONOMERNIH CEMENATA I STAKLOHIBRIDNOG MATERIJALA

Ana Brundić i Katarina Franić

Svrha ovog rada je bila ispitati mikrotvrdoću visokoviskoznog i smolom modificiranog staklenoinomernog cementa te staklohibridnog materijala, sa i bez zaštitnog premaza, nakon izlaganja materijala humanoj krvi odmah nakon miješanja, tijekom stvrdnjavanja materijala, te nakon stvrdnjavanja materijala.

U istraživanju su korištena tri materijala u kapsuliranom obliku: 1) Fuji IX GP Extra A2; 2) Fuji II LC, A2; 3) EQUIA Forte HT, A2, sa ili bez premaza (EQUIA Forte Coat) za ukupno 12 eksperimentalnih skupina, a za svaku skupinu je pripremljeno po 10 uzoraka ($n=10$). Ukupno četiri kontrolne skupine (1. Fuji IX GP Extra, 2. Fuji II LC, 3. EQUIA Forte HT i 4. EQUIA Forte HT + EQUIA Forte Coat) su pripremljene tako da su svi materijali zamiješani prema uputama proizvođača te su istisnuti u posebno izrađene teflonske kalupe s otvorima za postavljanje materijala promjera 5 mm i visine 2 mm. Iduće četiri skupine su bile istovjetne kontrolnim skupinama te su pripremljene na prethodno opisani način, međutim, nakon stvrdnjavanja materijala, svi uzorci su postavljeni u plastične posudice s humanom krvi, koja je izvađena neposredno nakon pripreme uzoraka, tijekom 10 minuta nakon čega su uzorci isprani destiliranom vodom te su stavljani u plastične posude u PBS. Posljednje četiri eksperimentalne skupine su pripremljene na način da je na staklenu podlogu na koje su kasnije postavljeni teflonski kalupi, u koje su istisnuti već spomenuti zamiješani materijali, postavljena humana krv kao i na površinu samog materijala odmah nakon istiskivanja istog u teflonske kalupe. Mikrotvrdoća uzoraka je izmjerena u Vickers uređaju za mjerenje mikrotvrdoće prije i nakon termocikliranja od 10 000 ciklusa.

Kod kontrolnih skupina, statistički značajno najveća mikrotvrdoća izmjerena je za EQUIA Forte HT + EQUIA Forte Coat prije termocikliranja (70.71 ± 8.79) i nakon termocikliranja (68.6 ± 7.65), ($p < 0.05$). Prije termocikliranja, za Fuji II LC uzorci izloženi humanoj krvi tijekom stvrdnjavanja imali su statistički značajno nižu mikrotvrdoću (42.65 ± 4.22), ($p = 0.01$), za Fuji IX GP Extra i za EQUIA Forte HT, statistički značajno najveća mikrotvrdoća je izmjerena kod uzoraka izloženih humanoj krvi nakon stvrdnjavanja ($p < 0.01$) dok je kod EQUIA Forte HT+Equia Forte Coat, izlaganje uzoraka humanoj krvi prije stvrdnjavanja negativno utjecalo na mikrotvrdoću te je izmjerena statistički najmanja mikrotvrdoća (62.15 ± 7.79), ($p < 0.001$). Nakon termocikliranja. EQUIA Forte HT+EQUIA

Forte Coat je pokazao statistički najveću mikrotvrdoću u skupini kojoj je krv dodana nakon stvrdnjavanja (73.07 ± 8.85), ($p < 0.05$).

Izlaganje materijala humanoj krvi tijekom stvrdnjavanja je negativno utjecalo na mikrotvrdoću smolom modificiranog (Fuji II LC), viskoviskoznog SIC (Fuji IX GP Extra) i staklohibridnog materijala sa zaštitnim premazom (EQUIA Forte HT+EQUIA Forte Coat). Izlaganje materijala humanoj krvi nakon stvrdnjavanja, povećalo je mikrotvrdoću viskoviskoznog SIC-a i staklohibridnog materijala bez zaštitnog premaza (EQUIA Forte HT). Starenjem uzoraka, povećala se mikrotvrdoća kod uzoraka nakon izlaganja humanoj krvi nakon stvrdnjavanja kod viskoviskoznog SIC-a i staklohibridnog materijala sa zaštitnim premazom.

Ključne riječi: staklenoinomerni cementi, staklohibridni materijal, mehanička svojstva, mikrotvrdoća, humana krv

10. SUMMARY

INFLUENCE OF HUMAN BLOOD CONTAMINATION ON MICROHARDNESS OF GLASS IONOMER CEMENTS AND GLASS HYBRID MATERIAL

Ana Brundić i Katarina Franić

The aim of the study was to investigate the microhardness of high-viscosity and resin-modified glass-ionomer cement and glass-hybrid material, with and without a protective coating, after exposure of the material to human blood immediately after mixing, during hardening of the material, and after hardening of the material.

Three materials in encapsulated form were used for the research: 1) Fuji IX GP Extra A2; 2) Fuji II LC, A2; 3) EQUIA Forte HT, A2, with or without coating (EQUIA Forte Coat) for a total of 12 experimental groups, and 10 samples were prepared for each group (n=10). A total of four control groups (1. Fuji IX GP Extra, 2. Fuji II LC, 3. EQUIA Forte HT and 4. EQUIA Forte HT + EQUIA Forte Coat) were prepared so that all materials were mixed according to the manufacturer's instructions and squeezed into a special made teflon molds with opening for placement of material with a diameter of 5 mm and a height of 2 mm. The next four groups were identical to the control groups and were prepared in the previously described manner, however, after hardening of the material, all samples were placed in plastic containers with human blood, which was taken out immediately after sample preparation, for 10 minutes after which the samples were washed with distilled water and placed in plastic containers in PBS. The last four experimental groups were prepared so that human blood was placed on the glass on which teflon molds were later placed, into which the already mentioned mixed materials were squeezed, and blood was also placed on the surface of the material immediately after it was squeezed into the teflon molds. The microhardness of the samples was measured in a Vickers microhardness tester before and after thermocycling for 10 000 cycles.

In the control groups, statistically significantly highest microhardness was measured for EQUIA Forte HT + EQUIA Forte Coat before thermocycling (70.71 ± 8.79) and after thermocycling (68.6 ± 7.65), ($p < 0.05$). Before thermocycling, Fuji II LC samples exposed to human blood during hardening had statistically significantly lowest microhardness (42.65 ± 4.22), ($p = 0.01$), for Fuji IX GP Extra and for EQUIA Forte HT, statistically significantly highest microhardness was measured in samples exposed to human blood after hardening ($p < 0.01$) while for EQUIA Forte HT + Equia Forte Coat, exposure of samples to human blood before hardening had a negative effect on microhardness, and the statistically lowest microhardness was measured (62.15 ± 7.79), ($p < 0.001$). After

thermocycling, EQUIA Forte HT+EQUIA Forte Coat showed statistically the highest microhardness in the group to which blood was added after hardening (73.07 ± 8.85), ($p<0.05$).

Exposure of the material to human blood during hardening, negatively affected the microhardness of resin-modified (Fuji II LC), high-viscosity GIC (Fuji IX GP Extra) and glass hybrid material with a protective coating (EQUIA Forte HT+EQUIA Forte Coat). Exposure of the material to human blood after hardening, increased the microhardness of high-viscosity GIC and glass hybrid material without a protective coating (EQUIA Forte HT). When materials were aged, microhardness of the samples increased after exposure to human blood after hardening for high-viscosity GIC and glass-hybrid material with a protective coating.

Keywords: glass ionomer cements, glass hybrid material, mechanical properties, microhardness, human blood