

UNIVERZITET U BEOGRADU
STOMATOLOŠKI FAKULTET

Maja M. Ležaja

**KOMPOZITI I ADHEZIVI SA SINTETSKIM
HIDROKSIPATITNIM PUNIOCIMA I
HIDROKSIPATITNI INSERTI:
ISPITIVANJE MEHANIČKIH SVOJSTAVA I
KVALITETA ADHEZIVNE VEZE**

Doktorska disertacija

Beograd, 2015.

UNIVERSITY OF BELGRADE
SCHOOL OF DENTAL MEDICINE

Maja M. Ležaja

**COMPOSITES AND ADHESIVES WITH
SYNTHETIC HYDROXYAPATITE FILLERS
AND HYDROXYAPATITE INSERTS:
EVALUATION OF MECHANICAL
PROPERTIES AND THE QUALITY OF THE
ADHESIVE BOND**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2015.

Mentor doktorske disertacije:

Doc. dr Vesna Miletić, docent

Univerzitet u Beogradu, Stomatološki fakultet

Članovi komisije za odbranu doktorske disertacije:

Prof. dr Vladimir Ivanović, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu, Stomatološki fakultet

Doc. dr Jugoslav Ilić, docent

Univerzitet u Beogradu, Stomatološki fakultet

Dr sc. Đorđe Veljović, naučni saradnik

Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-Metalurški fakultet

Dr sc. Miloš Milošević, naučni saradnik

Univerzitet u Beogradu, Inovacioni centar Mašinskog fakulteta

Datum odbrane: _____

ZAHVALNOST

Zahvaljujem se svima koji su doprineli izradi ove doktorske disertacije.

Hvala pre svega mojoj cenjenoj mentorki Doc. dr Vesni Miletić, što je prihvatila mentorstvo i vodila me na putu izrade doktorske disertacije na najbolji način koji mogu da zamislim. Bilo je veliko zadovoljstvo imati mentora koji istinski voli nauku i deli sa doktorantom entuzijazam oko osmišljavanja eksperimenata, dobijanja prvih rezultata i njihovog objavljivanja. Veliko HVALA za svo vreme koje ste mi posvetili i za sve što ste uradili za mene!

Dr Đorđu Veljoviću i Dr Bojanu Jokiću sa Tehnološko-metalurškog fakulteta zahvaljujem na svim hidroksiapatitima bez kojih ne bi ni bilo ove doktorske disertacije, na korisnim savetima i sugestijama, na velikoj podršci tokom svih istraživanja. Veliko hvala i za prelepe SEM mikrografije.

Dr Milošu Miloševiću i Dr Nenadu Mitroviću zahvaljujem na pomoći oko merenja zapreminske kontrakcije i pomeranja materijala na način koji je svakako unapredio kvalitet i vrednost ove doktorske disertacije.

Svom voljenom suprugu Alenu Zebiću zahvaljujem na projektovanju, izradi i fotografisanju pojedinih delova laboratorijske opreme i uzoraka, kao i na konstantnoj podršci i pomoći tokom izrade cele disertacije.

Dr Miroslavu Dramićaninu i njegovom timu iz Instituta za nuklearna istraživanja u Vinči zahvaljujem na pomoći oko merenja stepena konverzije eksperimentalnih kompozita.

Svojoj porodici zahvaljujem što su me bezuslovno podržali tokom izrade doktorske disertacije.

REZIME

Kalcijum hidroksiapatit (HAP) čini osnovnu mineralnu komponentu čvrstih zubnih tkiva pa kao takav predstavlja poželjnu komponentu materijala koji izgubljena zubna tkiva treba da nadoknade. U eri estetske stomatologije najzastupljeniji restaurativni materijali su kompoziti adhezivno vezani za tvrda zubna tkiva. Osnovni nedostatak kompozitnih materijala i dalje predstavlja polimerizaciona kontrakcija, koja uzrokuje stvaranje napona u materijalu i dovodi do nastanka mikropukotine na njihovom spoju sa zubnim tkivima.

Cilj ove doktorske disertacije bio je da se ispita uticaj HAP punilaca u kompozitima i adhezivima na njihova mehanička svojstva i vezu sa dentinom, kao i pravljenje i testiranje inserata na bazi HAP-a kao potencijalnih dentinskih zamenika.

Testiran je uticaj zamene dela staklenih punilaca jednim od pet oblika HAP punilaca (nanočestičnim, mikročestičnim: sferama sa i bez dopiranja silicijumom i trakama sa i bez dopiranja silicijumom), na stepen konverzije, tvrdoću po Vikersu, savojnu čvrstoću, savojni moduo elastičnosti, kompresivnu čvrstoću i kompresivni moduo elastičnosti eksperimentalnih kompozita, inicijalno i nakon 'starenja'. Optimalan maseni udeo punilaca na bazi HAP-a određen je pilot studijama. Osim toga, dva oblika nanočestičnog HAP-a (u obliku nano-iglica i nano-traka) u udelima 0,5-1,5 mas% su u obliku suspenzije dodavana u komercijalne adhezive, nakon čega je testom makrosmicanja ispitana jačina veze, a skenirajućom elektronskom mikroskopijom morfologija interakcije dobijenih adheziva sa dentinom. U trećem delu studije ispitivan je uticaj primene inserata na bazi HAP-a (standardizovani inleji) na zapreminsku kontrakciju i pomeranje materijala metodom korelacije digitalnih slika sa korišćenjem sistema dve kamere za trodimenzionalno merenje, kod restauracija koje su činili inserti u kombinaciji sa univerzalnim ili tečnim kompozitom, odnosno smolom modifikovanim glas jonomer cementom. Takođe je merena jačina veze HAP inserata sa pomenutim materijalima.

HAP punioci svojim mehaničkim svojstvima mogu da pariraju najčešće korišćenim staklenim puniocima, pri čemu su HAP sfere pozitivno uticale na mehanička svojstva testiranih materijala, kao inicijalno, tako i nakon 'starenja' u Henkovom

rastvoru tokom 4 nedelje. HAP sfere imaju retentivnu površinu i snaga njihovog povezivanja sa organskim matriksom u najvećem broju slučajeva prevazilazi snagu povezanosti primarnih štapićastih čestica u samoj sferi. HAP trake najizraženije povećavaju savojnu čvrstoću eksperimentalnih kompozita inicijalno, ali 'starenjem' postaju krhiji, pa se njihova mehanička svojstva izjednačavaju sa svojstvima kontrolnog kompozita bez HAP-a. Oblik HAP traka sa znatno većom dužinom u odnosu na širinu čestice čini da način njihovog loma usled dejstva sile zavisi od orijentacije same trake u odnosu na pravac širenja prsline, što nije slučaj kod HAP sfera. Nano-HAP pokazuje tendenciju formiranja aglomerata u kompozitu, pa mehanička svojstva takvih kompozita ne predstavljaju pravu sliku uticaja koji bi imale te čestice da su dobro distribuirane u organskom matriksu. Konverzija organske komponente nije bila ometena dodatkom HAP punilaca. Kompoziti sa dodatkom HAP-a su pokazivali bioaktivna svojstva nakon potapanja u Henkovom rastvoru.

Komercijalni adhezivi sa dodatkom nano-HAP-a ostvarili su sličnu ili jaču vezu sa dentinom. Jača veza sa dentinom ostvarena je kod adheziva aplikovanog samonagrizajućim protokolom, ali je pozitivan uticaj HAP-a bio izraženiji kod adheziva aplikovanih nakon kiselinskog nagrizanja. U adhezivima aplikovanim protokolom totalnog nagrizanja povoljniji je bio uticaj nano-HAP traka, dok su kod adheziva aplikovanog samonagrizajućim protokolom povoljniji uticaj imale nano-HAP iglice. Single Bond Universal sa nano-HAP trakama u udelu od 1 mas% ostvario je značajno jaču vezu sa dentinom u odnosu na kontrolni komercijalni adheziv Single Bond Universal aplikovan protokolom totalnog nagrizanja (za oko 45%). Jačina veze za dentin TeEconom Bond-a je dodatkom 0,5 mas% nano-HAP traka povećana za oko 62,5%, dok dalje povećanje udela HAP-a u istom adhezivu nije imalo pozitivan uticaj. Dodatak HAP punilaca nije ometao prodor adheziva u dentinske kanaliće.

HAP inserti, kao sinterovani hidroksiapatitni blokovi kontrolisane poroznosti, smanjili su zapreminsku kontrakciju i pomeranje materijala u centralnim delovima kaviteta u dentinskom disku restaurisanom insertom u kombinaciji sa restaurativnim materijalima. Kiselinsko nagrizanje HAP inserata je povećalo broj i veličinu pora na njegovoj površini što je doprinelo uspostavljanju mikromehaničke veze sa restaurativnim materijalima. Kao najpoželjniji materijal za cementiranje inserata su se pokazali

univerzalni kompoziti sa "totalno-nagrizajućim" adhezivom, dok je veza sa tečnim kompozitom i smolom modifikovanim glas jonomer cementom značajno slabija. Marginalna adaptacija inserta i restaurativnih materijala je pokazala odsustvo mikropukotine na spoju materijala i inserta, kao i materijala sa dentinom. Upotreba HAP inserata kao dentinskih zamenika bi mogla olakšati i skratiti kliničku proceduru restauracije velikih kaviteta.

KLJUČNE REČI: hidroksiapatit, kompoziti, adhezivi, inserti, mehanička svojstva, jačina veze sa dentinom, zapreminska kontrakcija

NAUČNA OBLAST: Stomatološke nauke

UŽA NAUČNA OBLAST: Restaurativna odontologija

UDK broj: 615.46:616.314(043.3)

ABSTRACT

Calcium hydroxyapatite (HAP) is an essential and dominant constituent of mineralized dental tissues. As such, HAP is a preferable component of dental materials for tooth restoration. Dental composites adhesively attached to dentin and enamel are the most frequently used restorative materials in contemporary aesthetic dentistry. However, polymerization shrinkage and the associated shrinkage stress remain the main disadvantages of composite materials.

This doctoral thesis aimed to investigate the effect of HAP fillers in composites and adhesives on their mechanical properties and interaction with dentin, as well as to develop and test HAP-based inserts as potential dentin restoratives.

The effect of partial replacement of conventional glass fillers with one of five shapes of HAP fillers (nano-HAP, micron-sized HAP particles: spheres with and without silicon doping or whiskers with and without silicon doping) in experimental composites was tested initially and after artificial 'aging' in terms of the degree of conversion, Vickers hardness, flexural strength, flexural modulus, compressive strength and compressive modulus. Optimal weight percentage of HAP fillers was obtained through pilot studies. Additionally, two shapes of nano-HAP particles (nano-rods and nano-whiskers) were added in commercial adhesives in the form of suspensions with 0.5-1.5 wt% of HAP. Macroshear bond strength to dentin was tested and the morphology of adhesive interaction was analyzed microscopically. In the third part of this thesis, the effect of HAP-based inserts (standardized inlays) on polymerization shrinkage and displacements of restorations was investigated using the digital image correlation method based on two cameras for obtaining three-dimensional information. The restorations were prepared by cementing HAP inserts in standardized dentin discs with a universal or a flowable composite, or a resin-modified glass-ionomer cement. Bond strength to the aforementioned materials was also tested.

HAP fillers were comparable to conventional glass fillers in terms of mechanical properties. HAP spheres even improved mechanical properties of experimental composites initially and after storage in Hank's balanced salt solution during 4 weeks. The surface of HAP spheres showed retentive ability and their bond strength to resin

matrix exceeded internal coherency of primary rod-like particles within the sphere. HAP whiskers showed the most favorable effect on flexural strength of composites initially, but after storage their brittleness increased and was comparable to flexural strength of control composite after storage. The shape of HAP whiskers, with length significantly exceeding width, influenced the fracture mode, which was dependent on the orientation of whiskers in relation to fracture cracks. Nano-HAP fillers showed susceptibility to agglomeration so mechanical properties of the tested composite with nano-HAP particles did not reflect the true effect of HAP in nanoscale dimensions. The degree of conversion of the tested composites remained unaffected by HAP fillers. Composites with HAP fillers showed bioactive behavior after immersion in Hank's balanced salt solution.

Commercial adhesives with added nano-HAP fillers showed similar or improved bond strength to dentin. The tested 'self-etch' adhesive had a stronger bond strength to dentin, but the positive effect of HAP fillers was more pronounced in the 'total-etch' adhesives. Positive effects of nano-HAP whiskers occurred in adhesives applied following the 'total-etch' protocol, while nano-rods were more effective in improving bond strength to dentin in adhesives applied following the 'self-etch' protocol. Single Bond Universal used with the 'total-etch' protocol significantly increased bond strength to dentin after the addition of 1 wt% of nano-whiskers (about 45% increase). TeEconom Bond increased significantly bond strength to dentin after the addition of 0.5 wt% of nano-whiskers (about 62.5% increase) but further increase in the HAP content did not have positive effects. HAP fillers did not affect adhesive infiltration of dentinal tubules.

HAP inserts, as sintered blocks with controlled porosity, reduced polymerization shrinkage and displacements in central parts of insert-containing restorations. Acid etching of HAP inserts increased the size and number of superficial pores contributing to the micromechanical retention of restorative materials. A universal composite in combination with a 'total-etch' adhesive appeared to be the material of choice for cementation of HAP inserts, while a flowable composite and a resin-modified glass-ionomer cement achieved weaker bond strengths to HAP inserts. There was no microgap formation between HAP inserts and restorative materials as well as between

restorative materials and dentin. The use of HAP inserts as dentin restoratives could simplify and shorten the clinical procedure of restoring large cavities.

KEYWORDS: hydroxyapatite, composite, adhesive, insert, mechanical properties, bond strength to dentin, volumetric shrinkage

SCIENTIFIC FIELD: Dental Sciences

AREA: Restorative Dentistry

UDC number: 615.46:616.314(043.3)

SADRŽAJ

1. UVOD

1.1. Mikrostruktura zubnih tkiva	1
1.1.1. Gleđ.....	1
1.1.2. Dentin.....	3
1.2. Hidroksiapatit	4
1.2.1. Sintetski hidroksiapatit.....	6
1.2.2. Kompaktiranje i sinterovanje praha apatita.....	9
1.2.3. Biomedicinska primena hidroksiapatita.....	11
1.3. Kompoziti	13
1.3.1. Mehanička svojstva kompozita.....	14
1.3.2. Uticaj punilaca na mehanička svojstva kompozita.....	16
1.3.3. Uticaj artefijelnog 'starenja' na mehanička svojstva kompozita.....	17
1.3.4. Kompoziti sa dodatkom hidroksiapatita.....	18
1.4. Adhezivni sistemi	22
1.4.1. Ostvarivanje veze sa dentinom.....	25
1.4.2. Merenje jačine veze adheziva i zubnih tkiva.....	26
1.4.3. Dodatak punilaca u adhezive.....	28
1.4.4. Rastvarač u adhezivima.....	30
1.4.5. Dodatak hidroksiapatita u adhezive.....	31
1.5. Dentalni inserti	34
1.5.1. Kontrola polimerizacione kontrakcije.....	36
1.5.2. Praćenje dimenzionalne stabilnosti nakon primene dentalnih inserata.....	36
1.5.3. Merenje dimenzionalne stabilnosti metodom korelacije slika.....	40
1.5.4. Druge metode za trodimenzionalno praćenje polimerizacione kontrakcije.....	43

1.6. Svaha, ciljevi i zadaci istraživanja.....	44
2. MATERIJAL I METOD	
2.1. Aparatura korišćena u istraživanjima.....	46
2.2. Materijali korišćeni u istraživanju.....	48
2.3. Hidroksiapatiti korišćeni u istraživanjima.....	49
2.3.1. Sinteza nano-HAP-a precipitacionom metodom.....	49
2.3.2. Sinteza HAP sfera hidrotermalnom metodom.....	50
2.3.3. Sinteza HAP traka hidrotermalnom metodom.....	51
2.3.4. Dobijanje silicijumom dopiranih HAP sfera i traka.....	52
2.3.5. Dobijanje suspenzija nano-HAP iglica i traka.....	53
2.3.6. Sinteza i procesiranje praha HAP-a do dobijanja inserata.....	54
2.4. Kompoziti sa hidroksiapatitnim puniocima.....	56
2.4.1. Pilot studija – sastav eksperimentalnih kompozita.....	56
2.4.2. Sastav i priprema eksperimentalnih kompozita.....	57
2.4.3. Priprema uzoraka eksperimentalnih kompozita.....	59
2.4.4. Ispitivanje uzoraka eksperimentalnih kompozita.....	60
2.5. Adhezivi sa hidroksiapatitnim puniocima.....	65
2.5.1. Priprema adheziva sa hidroksiapatitom.....	65
2.5.2. Priprema uzoraka za ispitivanje veze adheziva i dentina.....	66
2.5.3. Ispitivanje veze adheziva i dentina.....	67
2.6. Hidroksiapatitni inserti.....	67
2.6.1. Priprema uzoraka za ispitivanje kontrakcije i pomeranja.....	67
2.6.2. Ispitivanje kontrakcije i pomeranja.....	70
2.6.3. Priprema uzoraka za ispitivanje veze inserata sa materijalima.....	71
2.6.4. Ispitivanje veze inserata sa materijalima.....	73

2.6.5. SEM analiza veze materijala sa dentinom i HAP insertom.....	73
2.7. Statistička analiza.....	74
3. REZULTATI	
3.1. Kompoziti.....	75
3.2. Adhezivi.....	87
3.3. Inserti.....	93
4. DISKUSIJA	
4.1. Eksperimentalni kompoziti sa HAP puniocima.....	101
4.2. Adhezivi sa dodatkom nano-HAP suspenzija.....	104
4.3. HAP Inserti.....	108
5. REZIME REZULTATA	
4.4.1. Eksperimentalni kompoziti sa HAP puniocima	114
4.4.2. Adhezivi sa dodatkom nano-HAP suspenzija.....	115
4.4.3. HAP inserti.....	116
6. ZAKLJUČAK.....	117
7. LITERATURA.....	118
Prilozi	
Biografija	

LISTA SLIKA

Slika 1.	Šematski prikaz strukture jedinične ćelije hidroksiapatita.....	5
Slika 2.	Analitička vaga.....	47
Slika 3.	Vorteks mikser.....	47
Slika 4.	Centrifugalna mešalica.....	47
Slika 5.	Rotator.....	47
Slika 6.	LED lampa.....	47
Slika 7.	Inkubator.....	47
Slika 8.	Testera.....	47
Slika 9.	Kidalica za merenje sile.....	47
Slika 10.	Nano-HAP dobijen precipitacionom metodom.....	50
Slika 11.	Hidrotermalno sintetisan HAP.....	51
Slika 12.	HAP trake.....	52
Slika 13.	Silicijumom dopirane HAP sfere i trake.....	53
Slika 14.	HAP nano-trake.....	54
Slika 15.	HAP mikrosfere i presek kompakta, kompakta.....	55
Slika 16.	Infracrveni spektrofotometar za merenje stepena konverzije.....	60
Slika 17.	Uređaj za merenje tvrdoće po Vickersu.....	61
Slika 18.	Otisak prilikom merenja tvrdoće po Vickersu.....	61
Slika 19.	Šematski prikaz eksperimentalne postavke za testiranje savojne čvrstoće.....	62
Slika 20.	Realan prikaz postavke za testiranje savojne čvrstoće.....	62
Slika 21.	Ilustracija grafikona za određivanje savojnog modula elastičnosti.....	63
Slika 22.	Instron uređaj za merenje pritisne čvrstoće.....	64
Slika 23.	SEM mikroskop i Au-Pd neparivač.....	64
Slika 24.	Šematski prikaz korišćenja zuba za ispitivanje jačine veze.....	66
Slika 25.	Faze u toku pripreme uzoraka i merenje jačine veze adheziva i dentina... ..	66
Slika 26.	Faze u toku pripreme uzoraka za ispitivanje kontrakcije i pomeranja.....	68
Slika 27.	Eksperimentalna postavka za ispitivanje kontrakcije i pomeranja materijala.....	70
Slika 28.	Prikaz iz Aramis softvera.....	71
Slika 29.	Ispitivanje jačine veze restaurativnih materijala sa HAP insertima.....	73

Slika 30.	Presek restaurisanog dentinskog diska korišćen za SEM analizu.....	74
Slika 31.	SEM mikrografija fragmenta kompozita kontrolne grupe.....	81
Slika 32.	SEM mikrografija fragmenta kompozita <i>Nano</i> grupe.....	82
Slika 33.	SEM mikrografija fragmenta kompozita <i>Sf</i> grupe.....	83
Slika 34.	SEM mikrografija fragmenta kompozita <i>Sf_{Si}</i> grupe.....	83
Slika 35.	SEM mikrografija fragmenta kompozita <i>Tr</i> grupe.....	84
Slika 36.	SEM mikrografija fragmenta kompozita <i>Tr_{Si}</i> grupe.....	84
Slika 37.	SEM mikrografija fragmenta kompozita <i>Sf</i> grupe posle 'starenja' u HBSS.	85
Slika 38.	SEM mikrografija fragmenta kompozita <i>Tr_{Si}</i> grupe posle 'starenja' u HBSS.....	85
Slika 39.	SEM mikrografije površine reprezentativnih uzoraka kompozita sa HAP puniocima nakon 'starenja' u HBSS.....	86
Slika 40.	Tipovi loma nakon ispitivanja jačine veze adheziva sa dentinom.....	90
Slika 41.	SEM mikrografije interakcije dentina i adheziva sa HAP puniocima.....	92
Slika 42.	SEM mikrografije veze Z250 kompozita sa i bez upotrebe inserta.....	97
Slika 43.	SEM mikrografije veze tečnog kompozita sa i bez upotrebe inserta.....	98
Slika 44.	SEM mikrografija veze Vitrebonda sa i bez upotrebe inserta.....	99
Slika 45.	SEM mikrografije površine HAP inserata pre i posle nagrizanja kiselinom	100
Slika 46.	Šematski prikaz površina korišćenih za računanje 'C' faktora sa i bez inserata.....	111

LISTA TABELA

Tabela 1.	Usporedni prikaz mehaničkih svojstava hidroksiapatita i zubnih tkiva....	6
Tabela 2.	Mehanička svojstva kompozita često korišćenih u kliničkoj praksi.....	15
Tabela 3.	Sumirani rezultati mehaničkih svojstava kompozita sa HAP-om.....	21
Tabela 4.	Srednje vrednosti i standardne devijacije tvrdoće po Vickersu testiranih smeša.....	56
Tabela 5.	Sastav organske komponente kompozita.....	58
Tabela 6.	Sastav testiranih eksperimentalnih kompozita.....	58
Tabela 7.	Adhezivi korišćeni za dodavanje hidroksiapatitnih suspenzija.....	65

Tabela 8.	Sastav adheziva nakon dodatka HAP-suspenzija.....	66
Tabela 9.	Materijali korišćeni za testiranje polimerizacije kontrakcije i pomeranja	69
Tabela 10.	Eksperimentalne grupe za ispitivanje jačine veze materijala i HAP inerala.....	72
Tabela 11.	Tip loma testiranih adheziva sa i bez HAP-a.....	90
Tabela 12.	Tip loma između HAP inserat i restaurativnih materijala.....	94

LISTA GRAFIKONA

Grafikon 1.	Stepen konverzije.....	75
Grafikon 2.	Tvrdoća po Vikersu kompozita inicijalno i nakon 4 nedelje.....	76
Grafikon 3.	Savojna čvrstoća kompozita inicijalno i nakon 4 nedelje.....	77
Grafikon 4.	Savojni moduo elastičnosti kompozita inicijalno i nakon 4 nedelje....	78
Grafikon 5.	Kompresivna čvrstoća kompozita inicijalno i nakon 4 nedelje.....	79
Grafikon 6.	Kompresivni moduo elastičnosti kompozita inicijalno i nakon 4 nedelje.....	80
Grafikon 7.	Jačina veze SBU_TE, bez i sa HAP puniocima i sa vodom.....	88
Grafikon 8.	Jačina veze SBU_SE, bez i sa HAP puniocima i sa vodom	88
Grafikon 9.	Jačina veze TeE, bez i sa HAP puniocima i sa vodom.....	89
Grafikon 10.	Jačina veze HAP inserata i restaurativnih materijala.....	93
Grafikon 11.	Procenat kontrakcije restauracija bez i sa HAP insertima.....	95
Grafikon 12.	Pomeranje materijala (μm) kod restauracija bez i sa HAP insertima...	96

KORIŠĆENE SKRAĆENICE

10-MDP- 10-Metakriloiloksidecil dihidrogen fosfat – funkcionalni monomer

2-MP- 2-Bis-metakriloksietil fosfat – funkcionalni monomer

AFM- Mikroskop atomskih sila

ANOVA – Analiza varijanse (statistički test)

BFS - Otpornost na biaksijalno savijanje (Biaxial flexural strength)

BisGMA - Bis-fenol A glicerolat (1 glicerol/fenol) dimetakrilat

CQ – Kamforhinon - fotoinicijator

Cs - Kompresivna čvrstoća

DC- Stepen konverzije (Degree of conversion)

DMAEMA - 2-(Dimetilamino)etilmetakrilat – tercijarni amin

DTS – Otpornost na dijametralno istezanje (Diametral tensile strength)- otpornost na uvrtnje

E- Moduo elastičnosti

Ec – Kompresivni moduo elastičnosti

Ef – Savojni moduo elastičnosti

Fs – Savojna čvrstoća (Flexural strength)

Ft – Žilavost (Fracture toughness) – otpornost na širenje prsline

FTIR – Infracrvena spektroskopija (Fourier transform infrared spectroscopy)

HAP-Hidroksiapatit

HBSS – Henkov balansirani rastvor (Hank's Balanced Salt Solution)

HEMA- (Hidroksietil)metakrilat

HK – Tvrdoća po Knupu (Hardness Knoop)

HRTEM- Transmisioni elektronski mikroskop visoke rezolucije

HV – Tvrdoća po Vikersu (Hardness Vickers)

PMMA kalupi- Polimetil Metakrilatni kalupi

SBF- Simulirana telesna tečnost (simulated body fluid)

SBU- Single Bond Universal

SDS insert- Schumacher Dental System insert

SEM- Skenirajući elektronski mikroskop

TCP- Tri-Kalcijum-Fosfat

TeE- TeEconom Bond

TEGDMA - Trietilenglikol-dimetakrilat monomer

TMPTMA- Trimetilolpropan Trimetakrilat monomer

UDMA – Uretan-dimetakrilat monomer

μCT – Mikro-Kompjuterizovana Tomografija

1. UVOD

1.1. Mikrostruktura gleđi i dentina

1.1.1. Gleđ

Nastajanje i sazrevanje mineralizovanih tkiva posledica je visoko koordinisanih procesa, koji uključuju mnogobrojne ćelijske tipove, proteine i signale koji rukovode procesima nukleacije (začeca kristala) i kristalizacije čija je posledica stvaranje hidroksiapatita (HAP-a). U zubnoj gleđi HAP, sa veoma specifičnom i jedinstvenom organizovanošću u gleđne prizme, koje su i same tesno uzglobljene i specifično orjentisane, čini gleđ najtvrdim tkivom u ljudskom organizmu. HAP predstavlja i osnovnu mineralnu komponentu dentina, zubnog cementa i koštanog tkiva (Malina et al., 2013, Roveri and Iafisco, 2010).

HAP u gleđi čini 96 mas%, dok ostatak od 4 mas% čine gleđni proteini i voda (Gutiérrez-Salazar and Reyes-Gasga, 2003). Struktura gleđi i njena biomineralizacija su prema tome od interesa ne samo za razumevanje njene građe u cilju boljeg tretmana već i kao osnova za sintetisanje novih biomimetičkih materijala.

Udružena aktivnost i kooperacija između minerala i uticaja proteina/peptida je ključna u začecu kristala u biomimetičkim mineralnim sistemima kakav je i HAP (Colfen and Mann, 2003, Meldrum and Colfen, 2008). Uticaj organskih molekula može smanjiti potrebnu energiju za začecanje kristala i kontrolisati nukleaciju i kristalizaciju u pogledu geometrije, elektrostatike i stehiometrije zbog komplementarnosti jezgara kristalizacije i funkcionalnih supstrata. Inicijalni kontakt između organskog matriksa i mineralnih jezgara je ključan u kontroli kristalizacije i građenja strukturalne hijerarhije na različitim dimenzionalnim skalama, a osnovni razlog svih dešavanja je težnja sistema da zauzme stanje i oblik sa najmanjom energijom (Yang et al., 2011, Yang et al., 2010).

Osnovni strukturni element gleđi je igličasti nano-kristal HAP-a, nalik vlaknu, heksagonalnog preseka (Farina et al., 1999). Prosečan prečnik nanokristala je 30-40 nm procenjen na transmisionom elektronskom mikroskopu visoke rezolucije (HRTEM), odnosno $28,3 \pm 3,9$ nm procenjen mikroskopijom atomskih sila (AFM) (Cui and Ge,

2007). Ovi nanokristali su dalje grupisani u nanofibrile, promera 80-130 nm procenjeno skenirajućom elektronskom mikroskopijom (SEM), odnosno $108,7 \pm 11,2$ nm (AFM) (Cui and Ge, 2007). Nanofibrile su dalje grupisane podužno uz druge nanofibrile orjentisane na isti način u gleđne prizme čijoj uzdužnoj osovini su paralelni, ali imaju sve veću inklinaciju udaljujući se od centralne ose prizme ili između prizmi u interprizmatičnu gleđ, pri čemu je njihov nagib u odnosu na pravac prizme u interprizmatičnom delu veći nego u samoj prizmi. Gleđne prizme na preseku imaju oblik ključaonice veličine 6-8 μm i obavijene su organskom čauirom debljine 0,1 μm (Fincham et al., 1999). Same prizme se dalje organizuju u snopove koji su u površinskom delu gleđi orjentisani radijalno, sa uočljivim Recijusovim linijama. Na većem uveličanju srednje i unutrašnje trećine gleđi uočavaju se i Hunter-Šregerove (Hunter-Schreger bands) trake kao posledica naizmenične smene u orjentaciji prizmi. Pojedini delovi gleđi su aprizmatični, sa kristalima HAP-a koji nisu organizovani u gleđne prizme. Ovakva je gleđ ka dentinu, odnosno gleđno-dentinskom spoju i na incizalnim ivicama mlečnih i stalnih sekutića (Kodaka et al., 1989, Whittaker, 1982). Naziva se i „primitivnom“ ili neuređenom gleđi, a služi kao ojačavajući mehanizam zahvaljujući svojoj fleksibilnoj prirodi (Wang and Weiner, 1998). Na površini zuba debljina ovog aprizmatičnog sloja je u većini slučajeva do 5 μm , sa tendencijom veće debljine idući od sekutića ka molarima, ali u nekim slučajevima doseže i 85-100 μm (Whittaker, 1982). Ispod fisura se neretko takođe nalaze zone aprizmatične gleđi (Kodaka, 2003). Aprizmatični slojevi su posledica funkcionalne nezrelosti ameloblasta na početku njihove sintetske aktivnosti, kao i postepene degeneracije na kraju njihovog životnog veka. Ovaj aprizmatični sloj sa površine zuba smanjuje retentivnost površine, ali se atricijom u funkciju zuba brzo izgubi.

Gleđ se ka unutrašnjosti zuba naslanja na dentin, pri čemu je na njihovom spoju gleđno-dentinska granica. Ova dva tkiva su različitih mehaničkih svojstava, gleđ je tvrda i kruta, dok je dentin mekši i elastičniji. Spoljašnje zubno tkivo, gleđ, ima ulogu zaštitne „kacige“ izuzetno otporne na habanje, dok sama otpornost na spoljašnje opterećenje zavisi od žilavijeg i elastičnijeg dentinskog tkiva ka unutrašnjosti zuba, koji amortizuje prenete sile (Bechtle et al., 2010). Gleđno-dentinska granica i anatomski i funkcionalno predstavlja smenu ova dva tkiva, pri čemu je njena funkcionalna širina, u kojoj mehanička svojstva nisu potpuno svojstvene ni gleđi ni dentinu, veća od one

anatomske i iznosi oko 11,8 μm (Marshall et al., 2001). Oblik gleđno-dentinske granice je neravan, poput poređanih školjki sa konveksitetima usmerenim ka dentinu, a konkavitetima okrenutim ka gleđi, veličine 25-100 μm (Marshall et al., 2001). Gleđno-dentinski spoj karakterišu i paralelna kolagena vlakna prečnika 80-120 nm, koja su direktno inserirana u gleđne minerale i povezana sa isprepletenom fibrilarnom mrežom dentinskog kolagenog matriksa (Lin et al., 1993). Ovakva „školjkasta“ neravna struktura gleđno-dentinskog spoja sa kolagenim vlaknima prožetim između gleđi i dentina čini spoj ova dva kalcifikovana tkiva dodatno pojačanim.

Debljina kristala HAP-a u dentinu idući ka gleđno-dentinskoj granici opada, dok je dalje u gleđi idući ka spolja sve veća (Xue et al., 2013). Kristali HAP-a ka gleđi su više oblika pločica, za razliku od igličastih u delovima dentina koji su poslednji mineralizovani, dakle ka pulpi, dok je njihova debljina oko 5 nm neovisno o lokaciji (Kinney et al., 2001).

1.1.2. Dentin

Dentin čini najveći deo zuba. Po svojoj građi dosta se razlikuje od gleđi i sličniji je koštanom tkivu. Dentin je specijalizovano mineralizovano vezivno tkivo, tvrđe i gušće od koštanog tkiva. Njegove granice ka spolja ograničavaju u kruničnom delu zubna gleđ, u korenskom delu zubni cement, a ka unutra sloj odontoblastnih ćelija pulpe. Kako odontoblastne ćelije predstavljaju deo i dentina i pulpe, dentin se često razmatra kao deo pulpo-dentinskog kompleksa, pri čemu je njegov mineralizovani deo posledica diferencijacije i maturacije odontoblasta. Osnovna razlika u odnosu na sastav gleđi je u organskoj komponenti, koja je kod dentina znatno zastupljenija i čini oko 45 vol% (Kinney et al., 2003). HAP je u dentinu slabije organizovan, manjih dimenzija i igličastog oblika. Veliki deo ovih kristala je rastresito inkorporiran u kolagenu mrežu, ojačavajući je na taj način. Moduo elastičnosti dentina je niži u poređenju sa gleđi, pa se dentin može u funkciji više elastično deformisati (Zaytsev et al., 2014).

Strukturalno, dentin je sačinjen od dentinskih tubula čiji lumen je okružen peritubularnim dentinom. Između zona peritubularnog dentina nalazi se slabije mineralizovan intertubularni dentin. U lumenu dentinskih kanalića smešteni su odontoblastni produžeci, dok je prostor oko njih (periodontoblastni prostor) ispunjen

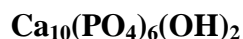
dentinskim likvorom, transudatom plazme koji se naziva još i dentinski fluid. Kalcifikovani matriks sa tubulima je blago inkliniran u odnosu na normalu koja povezuje gleđno-dentinsku granicu i pulpnu komoru. Sami dentinski tubuli su sigmoidalnog oblika, zakrivljeni u obliku razvučenog slova „S“ u koronarnom delu krunice. Prosečan prečnik tubula varira idući od gleđi ka pulpi, iznoseći $2,4 \pm 0,07 \mu\text{m}$ u površinskim delovima, $3,7 \pm 0,06 \mu\text{m}$ u sredini i $4,28 \pm 0,04 \mu\text{m}$ u pulpnim delovima dentina (Lenzi et al., 2013). Gustina tubula u unutrašnjim delovima dentina je veća i iznosi oko 69 400 tubula/mm²; u srednjim delovima dentina oko 40 000 tubula/mm² i u površinskim delovima oko 28 500 tubula/mm² (Lenzi et al., 2013).

U zoni dentina, neposredno do odontoblasta se nalazi preentin, nemineralizovano tkivo koje je medijum za razmenu tkivnih sastojaka, a naziva se još i periodonotoblastni matriks. U zavisnosti od gustine minerala u dentinu se razlikuju: 1) visokomineralizovana zona koja odgovara peritubularnom dentinu, čija debljina varira zavisno od više faktora od kojih je značajna i starost pacijenta, pa tako nekad može biti toliko zadebljan da u potpunosti obliteriše dentinski tubul; 2) srednje mineralizovana zona odgovara intertubularnom dentinu u kome se nalazi i glavni deo kolagenih vlakana; 3) slabo mineralizovana zona predentina.

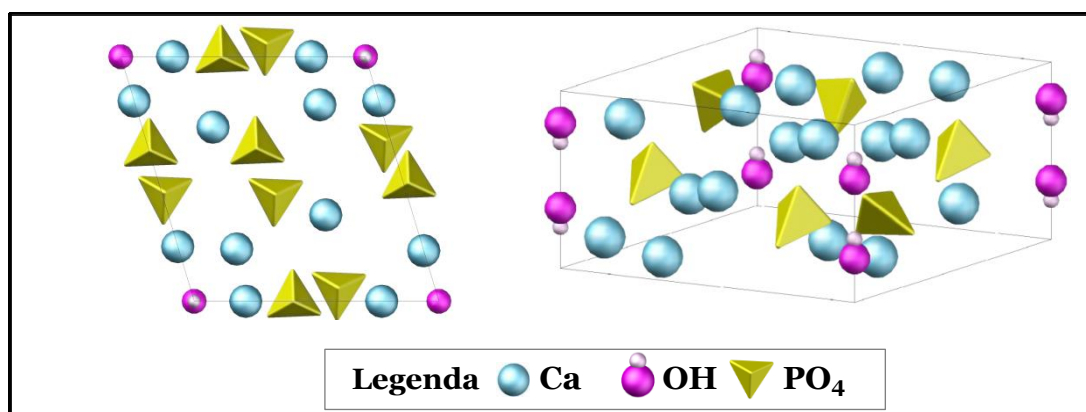
Razlika u sastavu intertubularnog i peritubularnog dentina uzrokuje i njihova različita mehanička svojstva, pa tako tvrdoća peritubularnog dentina iznosi 2,3 GPa, dok je za intertubularni ona 0,5 GPa, utvrđena AFM mikroskopom. Na isti način utvrđen je i moduo elastičnosti od 28,6 GPa za peritubularni, odnosno 20 GPa za intertubularni dentin (Kinney et al., 1999).

1.2. Hidroksiapatit

Termin apatit predstavlja čitavu grupu jedinjenja, slične ali ne identične strukture, čija bi zajednička hemijska formula podrazumevala 10 jona metala (A), 6 oksidnih grupa (BO₄) i dva jona nemetala ili anjonskih grupa poput OH⁻, Cl⁻, F⁻, CO₃²⁻, dakle zajedničke formule A₁₀(BO₄)₆X₂ (Park and Lakes, 1992). Kalcijum hidroksiapatit je tipičan predstavnik ove grupe sa tačno definisanom hemijskom formulom:



HAP kristališe heksagonalno, sa jediničnom ćelijom dimenzija dve ivice $a=b=9,432 \text{ \AA}$ i trećom, normalnom na prethodne dve, $c=6,881 \text{ \AA}$ (1 angstrom = 1.0×10^{-10} metara, tj 0,1 nm). Hidroksilni joni leže na uglovima rombične baze jedinične ćelije, praveći stubove hidroksilnim grupama, sa rastojanjem polovine visine jedinične ćelije. Šest jona Ca^{2+} je povezano ovim hidroksilnim grupama u obliku dva jednakostranična trougla, normalna na hidroksilne grupe, koji su međusobno rotirani za 60° . Na polovini rastojanja između trouglova su dva niza sa po dva dodatna Ca atoma, paralelna hidroksilnim grupama i oni su koordinirani atomima kiseonika iz ortofosfornog tetraedra, pri čemu preostaje jedna slobodna negativna valenca. Između dva Ca atoma su po dve PO_4^{3-} grupe, čiji su joni kiseonika pomereni za $0,3 \text{ \AA}$ od ravni trouglova kalcijuma (Veljović, 2010). Šematski prikaz jedinične 'ćelije' HAP-a prikazan je na Slici 1. Površinsku reaktivnost HAP kristala određuje njegova unutrašnja dvojaka naelektrisanost, pozitivno naelektrisana kalcijumom (Ca^{2+}) bogata c -ravan, i negativno naelektrisana a -ravan usled hidroksilnih (OH^-) i fosfatnih grupa (PO_4^{3-}).



Slika 1. Šematski prikaz strukture jedinične 'ćelije' HAP-a, projekcija u jednu ravan i trodimenzionalni prikaz

Stehiometrijski kalcijum-hidroksiapatit je onaj koji može da se prikaže formulom $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, sa udelom Ca od 39,68 mas%, P od 18,45 mas%, pri čemu je njihov molarni odnos (Ca/P) 1,67 i maseni 2,151. Teorijska gustina HAP-a je $3,168 \text{ g/cm}^3$, tvrdoća po Vikersu 0,6-3 GPa, kompresivna čvrstoća 500-1000 MPa, savojna čvrstoća 115-200 MPa, Jung-ov moduo elastičnosti 80-100 GPa i otpornost na širenje prsline (žilavost) $0,6-1,0 \text{ MPa}\sqrt{\text{m}}$ (Veljović, 2010).

Tabela 1. Uporedni prikaz mehaničkih svojstava HAP-a i zubnih tkiva.

	Tvrdoća po Vickersu (HV)	Žilavost (Ft)	Moduo elastičnosti (E)	Kompresivna čvrstoća (Cs)	Svojna čvrstoća (Fs)
HAP	0,6-3 GPa	0,6-1 MPa \sqrt{m}	80-100 GPa	0,5-1 GPa	115-200 MPa
Dentin	64-74 GPa	1,7-3,1 MPa \sqrt{m} (Imbeni et al., 2003)	13-15 GPa (Sano et al., 1994a)	275-300 MPa (Kinney et al., 2003)	138-220 MPa (Rasmussen and Patchin, 1984)
	Po Knoop-u 29,4-68,6 GPa				
Gleđ	250-390 GPa (Gutiérrez-Salazar and Reyes-Gasga, 2003)	0,7-1,3 MPa \sqrt{m} (Zheng et al., 2013)	77-100 GPa (Zheng et al., 2013)	384 MPa (Willems et al., 1993)	49-68 MPa (Chan et al., 2009)

Biološki apatiti osim u mineralizovanim tkivima, mogu se naći i u patološkim kalcifikacijama, poput zubnog kamenca i urinarnih kalkulusa (Boskey et al., 1988). Biološki apatiti, za razliku od sintetskih, su uglavnom kalcijum deficitarni, sa fosfatnim grupama zamenjenim karbonatima. HAP gleđi sadrži veće kristale u poređenju sa dentinom i koštanim tkivom, manje je rastvorljiv, ali je ipak rastvorljiviji od sintetskog HAP-a, dobijenog na visokim temperaturama.

1.2.1. Sintetski hidroksiapatit

Odavno se pokušava sa sintetisanjem veštačkog minerala HAP-a, ali to i dalje predstavlja vrlo aktuelnu temu i konstantno se objavljuju radovi o novosintetisanim tipovima, različitog oblika, veličine, površinske strukture, mehaničkih svojstava, u cilju proširenja njihove primene. Sintetski HAP ima prednosti u odnosu na onaj ekstatovan iz tkiva, može se jednostavno čuvati, mogu mu se kontrolisati mehaničke i biološke karakteristike neophodne za specifične namene, može im se prilagođavati oblik, dimenzije itd. HAP biokeramički materijali u gustoj sinterovanoj formi primenjuju se samostalno kao implantni materijali, dok se u oblicima sa kontrolisanom poroznošću primenjuju u cilju ojačanja veze sa tkivima, doprinoseći adheziji ili proliferaciji tkiva, zavisno od veličine pora. Neke od biomedicinskih primena HAP-a su:

1) kao samostalni implantni materijali za popunjavanje koštanih defekata (Oonishi et al., 1989, Nery et al., 1992, Galgut et al., 1990), tj kao čuvar mesta za kost - nosači („skafoldi“) za prorastanje novih tkiva i nošenje bioaktivnih sastojaka (Uemura et al., 2014),

2) za zamenu pojedinih delova srednjeg uha (van Blitterswijk et al., 1990),

3) kao dentalni implanti (Kweon et al., 2014), odnosno znatno učestalije za oblaganje dentalnih i drugih implanata (Abraham, 2014, He et al., 2014, Coelho et al., 2010),

4) kao cementi u ortopedskoj hirurgiji (Campana et al., 2014),

5) u dentalnim kompozitima (Chen et al., 2011, Zhang and Darvell, 2012),

6) za direktno i indirektno prekrivanje pulpe (Swarup et al., 2014, Kato et al., 2011, Kiba et al., 2010, Chang et al., 2014),

7) u endodontskim silerima radi ubrzavanja apikalnog zarastanja (Khashaba et al., 2009, Vitti et al., 2013),

8) u zalivačima fisura (Park et al., 2005), preparatima za fluorizaciju zuba (Roveri et al., 2009)

9) u dentalnim adhezivima (Sadat-Shojai et al., 2010, Zhang and Wang, 2012b, Zhang and Wang, 2012a),

10) u sportskim napicima za sprečavanje nastanka dentalnih erozija (Min et al., 2011).

Neke od ovih primena se već uveliko i klinički koriste, pre svega kao sintetski zamenici za kost, u ortopedskoj i maksilofacijalnoj hirurgiji i za impregnaciju dentalnih implanata. Primena HAP-a u restaurativnoj stomatologiji zasad nije komercijalizovana. Sve ove primene govore o njegovoj direktnoj aplikaciji u ljudski organizam, u većini primena čak i u direktan kontakt sa vitalnim tkivima, a kako je zastupljen i u samim tkivima za organizam ne predstavlja stran materijal. Osnovne prednosti HAP-a su

biokompatibilnost (Roveri and Iafisco, 2010, Ghosh et al., 2008), bioaktivnost (Jokić, 2011, Oyane et al., 2003, Kobayashi et al., 1997) i strukturalna sličnost sa mineralima koštanog i zubnog tkiva (Guda et al., 2014, Ong et al., 2012, Antonakos et al., 2007). HAP je osteofilan, osteokonduktivan, osteointegrativan i može se lako sterilisati i koristiti u kliničkoj praksi.

Apatitna faza koja čini neorgansku komponentu čvrstih zubnih tkiva se može opisati kao multisupstituisan Ca-P apatit sa različitim stepenom stehiometrije Ca/P odnosa varirajući od 1,55 do 2,2 i sa jonskim supstitucijama, uglavnom karbonatima (do 8 mas%) što ga čini više A-B tipom apatita (Balas et al., 2003, Webster et al., 2004). A tip apatita je onaj kome su neke OH⁻ grupe zamenjene CO₃²⁻ grupama, a B tip apatita je onaj kome su neke PO₄³⁻ zamenjene CO₃²⁻ grupama. Jedan od načina da se poboljša bioaktivno ponašanje HAP-a jeste upravo da se postigne supstitucija u apatitu nalik onima u prirodnim tkivima (silicijumom, stroncijumom, fluorom, magnezijumom, itd.), pa se takav HAP naziva biomimetički. Jonske supstitucije utiču na površinsku strukturu i naelektrisanje HAP-a, što može imati uticaja na ponašanje materijala u biološkom okruženju i podstaći ćelijsku adheziju, proliferaciju i njihovu metaboličku aktivnost (Jokic et al., 2011).

HAP je moguće dobiti različitim modifikacijama precipitacije iz vodenih rastvora, primenom hidrotermalnih uslova sinteze, reakcijama u čvrstom stanju, sol-gel tehnikama, hidrolizom drugih kalcijum-fosfata, precipitacijom u prisustvu uree, glicina, formaldehida, heksametilentaamina, primenom sprej pirolize, ultrazvuka, itd (Veljović, 2010).

Polazna jedinjenja kalcijuma za precipitacionu sintezu su obično CaCO₃, CaO, Ca(OH)₂. Od jedinjenja fosfora, najčešće se koristi ortofosforna kiselina visoke čistoće ili amonijum-hidrogenfosfat. pH se održava na vrednosti 10 dodatkom amonijaka. Stajanje rastvora je važna faza kako bi se dobio stehiometrijski HAP (Honda et al., 1990). Sinteza se obično odvija pri kontrolisanoj brzini dodavanja reaktanata uz stalno mešanje, na temperaturama od 25°C do 90°C. pH se tokom sinteze smanjuje uklanjanjem hidroksilnih jona iz rastvora tokom taloženja HAP-a. Stehiometrijski HAP je izuzetno stabilna faza u rastvorima pri pH 4,3, na 25°C (Veljović, 2010).

Razne modifikacije precipitacionih metoda za rezultat imaju dobijanje HAP-a različite morfologije, kristaličnosti, veličine čestica (Janackovic et al., 2001). Kristaličnost predstavlja stepen strukturalne uređenosti atoma u kristalnoj rešetki na definisan, pravilan, ponovljiv način i značajna je za tvrdoću, gustinu, transparentnost kristala, kao i mogućnost difuzije kroz njega. Dobijanje HAP-a hidrotermalnim metodama daje proizvode visokog stepena kristaličnosti, jasno definisane i često uniformne strukture (Nayak, 2010). Sinteza se izvodi tretiranjem smeše reaktantima u autoklavu, na definisanoj temperaturi i pritisku.

Premda je hemijska struktura HAP-a jedinstvena, preciziranjem uslova prilikom njegove sinteze mogu se dobiti različite čestice sastavljene od aglomerata samih kristala HAP-a. Kako je primena HAP-a npr u ortopedskoj hirurgiji dosta zahtevna i u pogledu mehaničkih svojstava, pored biokompatibilnosti od materijala se zahteva da mogu da podnesu velike sile i pritiske kojima su materijali u funkciji izloženi. Zahtev za dobrim mehaničkim svojstvima se odnosi i na primenu u stomatologiji, jer je stomatognati sistem gotovo konstantno izložen dejstvu mastikatornih sila.

Obzirom da restaurativna stomatologija upravo nadoknađuje zubna tkiva sasvim je logična pretpostavka da se ta zubna tkiva pokušaju makar jednim delom nadoknaditi HAP-om kakav se tu i prirodno nalazio odnosno koji se i dalje nalazi u preostalim zubnim tkivima. Čak i kada nemaju direktan kontakt sa vitalnim tkivima biokompatibilnost restaurativnih materijala dolazi do izražaja. Dinamično okruženje u usnoj šupljini kao početnom delu respiratornog, digestivnog trakta, organu za govor i aparatu za sitnjenje hrane, od stomatoloških materijala zahteva dobra mehanička svojstva, ali i stabilna hemijska i biološka svojstva, jer je više nego pri ostalim primenama HAP-a, izložen bakterijama, enzimima salive, promenama pH, temperature i različitim agensima iz spoljašnje sredine, bilo da dospevaju vazduhom, hranom, ili nekim drugim putem.

1.2.2. Kompaktiranje i sinterovanje praha apatita

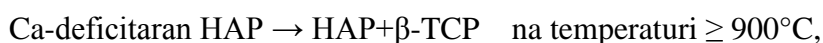
Kompaktiranjem praha moguće je dobiti HAP blokove u željenom obliku, veličini, različite gustine i poroznosti, pa samim tim i različitih mehaničkih svojstava (Malina et al., 2013, Champion, 2013). Proces dobijanja blokova podrazumeva sintezu

prahova HAP-a koristeći komercijalno dostupne reagense, potom sledi presovanje na visokim pritiscima u 'green body' ili polazni kompakt željenog oblika i veličine i na kraju sinterovanje tj. stapanje polaznih čestica na povišenoj temperaturi.

Polazni kompakti se mogu dobiti uniaksijalnim i izostatskim presovanjem. Tokom presovanja sile sabijanja razbijaju meke aglomerate i preuređuju čestice, pri čemu se njihovim kretanjem i preraspodelom dobija gušće pakovana struktura. Zavisno od toga da li su početne čestice koje se presuju u obliku tvrdih ili mekih aglomerata, kompakt će imati manje ili veće pore, i one će biti manje ili više uniformne veličine. Kod neaglomerisanih početnih čestica prisutna je samo jedna veličina pora, malih dimenzija i po tipu interčestičnih. Kada to nije slučaj javljaju se i veće pore, varijabilne veličine, interaglomeratne po tipu (Wang et al., 2008, Hornez et al., 2007).

HAP prah ispresovan u polazni kompakt dalje se sinteruje. Po definiciji, „Sinterovanje je kvantitativna i kvalitativna promena prirode kontakta između čestica praha, izazvana toplotnom pokretljivošću atoma ili jona i uzajamnim delovanjem čestica sa atmosferom sinterovanja, što je praćeno povećanjem kontaktne površine, smanjenjem poroznosti i povećanjem mehaničke čvrstoće sinterovanog tela“ (Balshin i Fedochenk, 1961). Dva osnovna procesa u toku sinterovanja su rast zrna i povećanje gustine kompakta, što je praćeno poboljšanjem njegovih mehaničkih svojstava. Pogonska sila sinterovanja je smanjenje slobodne energije sistema usled zamene međufazne granice čvrsto/gas, međufaznom granicom manje energije (čvrsto/čvrsto) (Kingery et al., 1976).

Svojstva HAP kompakata, odnosno inserata u slučaju aplikovanja u zub, zavise od parametara procesiranja (vreme zadržavanja na temperaturi sinterovanja, maksimalna temperatura pri procesiranju, pritisak na kome se presuju polazni kompakti, primenjena tehnika sinterovanja), kao i od karakteristika polaznih prahova (oblik i veličina čestica, stepen aglomerisanosti, oblik aglomerata), odnosa Ca/P itd (Veljović, 2010). Sinterovanjem presovanih prahova kalcijum deficitarnog HAP-a na povišenim temperaturama dolazi do faznih transformacija u β -trikalcijum fosfat (β -Ca₃(PO₄)₂ tj β -TCP) po reakciji:



dok β -TCP na temperaturi $\geq 1100^\circ\text{C}$ transformiše u α -TCP, koji karakteriše veća rastvorljivost. Daljim zagrevanjem na temperature $\geq 1300^\circ$ HAP bi se razložio na oksikalcijum fosfat – $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$ i kalcijum fosfat - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ koji u kontaktu sa vodom ili tečnošću iz tkiva formira HAP po reakciji:



U zavisnosti od zastupljenosti i veličine pora HAP-a keramike mogu biti sinterovane u gustoj formi, u obliku biokeramike kontrolisane poroznosti ili u formi skafolda (Chevalier and Gremillard, 2009, Vani et al., 2009). Pod gustim sinterovanim materijalima se podrazumevaju materijali sa maksimalnom vrednošću otvorene mikroporoznosti do 5 vol% i prečnika pora ne većim od 1 μm . Glavna prednost gustih formi je u dobrim mehaničkim svojstvima i postojanosti tokom vremena. Porozni materijali, usled postojanja pora, mogu da se ostvare kontakt veće površine bilo sa tkivima ili cementnim materijalima. Makroporozni materijali sa veličinom pora od 100 μm koriste se za oseintegraciju, oni sa veličinom pora preko 200 μm su čak osteokonduktivni (Hsu et al., 2007). Skafoldi su oblici sa najvećom poroznošću, koja je pogodna čak i za prorastanje koštanog tkiva, gde kod defekata kritičnih veličina održavaju prostor u kome se formira kost i sprečavaju da defekt bude popunjen mekim tkivima. Povećana poroznost se postiže kompaktiranjem sa raznim jedinjenjima čijim uklanjanjem iz strukture (sagorevanjem ili rastvaranjem) ostaje poroznost kontrolisane zastupljenosti i dimenzija. Njihove pore su veličine 100-150 μm , mada mogu ići čak do 500 μm (Chevalier and Gremillard, 2009, White et al., 1975). Mikroporozni materijali u slučaju primene u tkivima pospešuju ćelijsku adheziju i smanjuju brzinu resorpcije materijala. Njihova prednost u odnosu na makroporozne biokeramičke materijale su superiornija mehanička svojstva, a u odnosu na guste forme, ostvarivanje jače veze bilo sa tkivima ili cementnim materijalima (Jang et al., 2014, Kwon et al., 2013).

1.2.3. Biomedicinska primena hidroksiapatita

Biomaterijali su materijali koji se koriste za reparaciju ili zamenu živog tkiva ili organa kako iz zdravstvenih tako i iz estetskih razloga. Biomaterijali su poslednjih decenija postali sastavni deo kliničke prakse.

Osnovni zahtevi koji se postavljaju pred biomaterijale svakako podrazumevaju biokompatibilnost, netoksičnost kako samih materijala tako i eventualnih sastojaka koje razgradnjom oslobađaju. Osim ova dva osnovna zahteva postoje i specifični zahtevi poput bioaktivnosti, biodegradabilnosti, određene mehaničke, termičke i hemijske otpornosti, estetike i sl.

Bioaktivnost materijala znači njegovu sposobnost da potapanjem u simuliranu telesnu tečnost ili Kokubov rastvor (simulira sastav krvne plazme) na površini stvore kalcijum-fosfatne apatite, dakle mineralizovane tvorevine nalik HAP-u (Oyane et al., 2003, Kobayashi et al., 1997). Ispituje se kod materijala koji dolaze u kontakt sa mineralizovanim tkivima i svojstvena je sintetskim HAP-ovima. U kontaktu sa koštanim tkivom ovo svojstvo pospešuje i ubrzava oseointegraciju, poboljšava adheziju osteoblasta i sintezu novog koštanog tkiva. Bioaktivnost kompozita sa dodatkom 53-68 mas% HAP-a nakon 4 nedelje potapanja pokazao je Santos u svojoj studiji (Santos et al., 2001) i Zang u svojoj studiji sa dodatkom HAP traka (Zhang and Zhang, 2010a).

Izgubljena zubna tkiva u kliničkoj praksi se nadoknađuju restaurativnim materijalima, sa sastavom sličnim sastavu samog dentina, u smislu prisustva organske i neorganske komponente. Kao glavna mineralna komponenta tvrdih zubnih tkiva, HAP je odgovoran za njihovu tvrdoću i druge mehaničke karakteristike. Upravo HAP se koristi kao standard za poželjnu tvrdoću restaurativnih materijala, jer su svojstva restaurativnih materijala približnija svojstvima zubnih tkiva i najpoželjnija (Willems et al., 1993). Prisustvo HAP-a u zubnim tkivima ga čini i potencijalnom komponentom sintetskih materijala koji ta tkiva treba da nadoknade.

Osim toga u prethodnim studijama je pokazana i biokompatibilnost HAP-a aplikovanog u ljudski organizam, kao i njegova rendgen-kontrastnost (Collares et al., 2012), bioaktivnost (Santos et al., 2001) i karijes preventivno delovanje (Huang et al., 2011).

HAP je testiran u različitim stomatološkim materijalima, kompozitima (Zhang and Darvell, 2012), glas-jonomerima (Yap et al., 2002, Lee et al., 2010), endodontskim silerima (Collares et al., 2012), dentalnim adhezivima (Sadat-Shojai et al., 2010), preparatima za prekrivanje pulpe (Shayegan et al., 2010, Yasaei et al., 2013) itd.

Korišćeni su različiti oblici HAP-a poput nepravilnih (Santos et al., 2001), trakastih (Zhang and Darvell, 2012), kao i različite veličine HAP-a od nanometarskih do mikrometarskih. Testirana su mehanička svojstva poput savijanja (Chen et al., 2012), tvrdoće (Labella et al., 1994, Zhang and Darvell, 2012, Domingo et al., 2001), otpornosti na širenje prsline i dr. kao i sklonost apsorpciji vode i rastvaranju u istoj (Domingo et al., 2001). Ispitivan je uticaj HAP-a kao jedinog punioca u organskom matriksu (Domingo et al., 2001, Zhang and Darvell, 2012, Santos et al., 2001, Labella et al., 1994, Arcis et al., 2002) na promene u mehaničkim svojstavima u odnosu na mešavine smola bez punilaca. U samo jednoj studiji je HAP korišćen kao delimična zamena konvencionalnih punilaca (Chen et al., 2011). Pomenuta studija Chen-a i saradnika testirala je samo jedno mehaničko svojstvo, biaksijalnu otpornost na savijanje (Chen et al., 2011).

1.3. Kompoziti

Kompoziti su u osnovi sačinjeni iz tri osnovne komponente: 1) organski tj smolasti matriks; 2) neorganski punioci i 3) organsko-neorganski silan tj lepak koji povezuje prethodne dve komponente. Organski matriks čine monomeri, čiji dugački lanci polimerizuju i grade trodimenzionalnu mrežu kao sržnu strukturu, koju punioci popunjavaju, unapređujući joj fizičke i mehaničke karakteristike. Osim navedenih komponenti, kompoziti sadrže i inicijatore polimerizacije, razne aditive, stabilizatore, inhibitore, pigmente i sl. Neorganske punioce najčešće predstavljaju čestice stakla, kvarca ili fuzionisane staklene čestice. Organsko-neorganski lepak je uobičajeno dodat na same čestice punilaca sa kojim se povezuje neorganskim krajem svog molekula dok organski kraj molekula ima tendenciju da se poveže sa smolastim matriksom i tako objedini organsku i neorgansku fazu kompozita.

Uloga punilaca u kompozitima jeste poboljšanje njihovih svojstva, kako u pogledu mehaničkih svojstava, tako i u cilju smanjenja negativnih posledica procesa polimerizacije, odnosno u cilju smanjenja polimerizacione kontrakcije (Hervas-Garcia et al., 2006). U zavisnosti od veličine, punioci mogu biti: 1) Makro-punioci, prosečne

veliĉine 1-5 μm (prvobitno su bili znatno veći); 2) Mikro-punioci, proseĉne veliĉine 0,04-0,2 μm ; 3) Nano-punioci, u skorije vreme uvedeni, proseĉne veliĉine primarnih ĉestica 20-75 nm, odnosno sa veliĉinom aglomerata 0,6-1,4 μm . Prvobitni kompoziti sa makro puniocima imali su odreĊene nedostatke, hrapavu površinu koja se slabo polira i koja je sklona habanju. Sa druge strane kompoziti koji su imali samo mikro-punioce imali su manje neravnu površinsku teksturu, ali zbog povećanja površine takvih punilaca koji se vezuju za smolasti matriks, zahtevali su veću koliĉinu smola za svoje kvašenje i oblaganje, zbog ĉega je povećana viskoznost takvih kompozita i morao je biti smanjen ukupan udeo punilaca sa svim negativnim posledicama koje to uzrokuje (pogoršanje mehaniĉkih svojstava i povećanje polimerizacije kontrakcije) (Ferracane, 2011). U cilju prevazilaženja ovih problema proizvedeni su kompoziti sa kombinacijom makro i mikro-punilaca, tzv hibridni kompoziti, sa proseĉnom veliĉinom ĉestica 1 μm . Ovi kompoziti karakterisali su se prednostima i jednih i drugih punilaca, sa dobrim mehaniĉkim svojstvima, otpornošću na habanje i površinom koja se dobro polira (Ferracane, 1995). Napretkom nanotehnologije u kompozite su uvedeni nano-punioci, koji su doveli do daljeg poboljšanja mahaniĉkih svojstava kompozita.

Osim razlika po veliĉini, punioci se razlikuju i prema površinskoj hrapavosti, prisustvu funkcionalnih grupa na površini i hemijskom sastavu. Najĉešći su SiO_2 (stakleni, kvarcni) i keramiĉki punioci. Ovi punioci su ĉesto jednim delom zamenjeni metalima kako bi se povećala radio-kontrastnost materijala (Lachowski et al., 2013, Ermis et al., 2014, Dantas et al., 2013). Najĉešći oblici punilaca su nepravilni i sferni (Sabbagh et al., 2004). Sferan oblik omogućuje povećanje udela punilaca i povećanje otpornosti na savijanje, savojnog modula i tvrdoće (Kim et al., 2002). Pokazano je da su polimerizacioni napon i kontrakcija manji kod kompozita punjenih sfernim puniocima (Satterthwaite et al., 2012). Proseĉan udeo punilaca kod hibridnih kompozita je 70-80 mas%, kod mikro-punjenih 50-55 mas% a kod nano-punjenih 70-85 mas% (Beun et al., 2007).

1.3.1. Mehaniĉka svojstva kompozita

Ilie i Hickel (Ilie and Hickel, 2009a) su testirali 72 materijala i to hibridne, nano-punjene, mikro-punjene, 'packable' kompozite, ormocere, teĉne kompozite, kompomere i teĉne kompomere (kombinacija kompozita i glas jonomer cementa). Ćak i unutar iste

kategorije materijala su nađene velike razlike u mehaničkim svojstvima. Najslabija mehanička svojstva je pokazao mikro-punjeni hibridni kompozit, dok su hibridni, nano-hibridni, ormocerni i 'packable' kompoziti pokazali superiornija mehanička svojstva. Tečni kompoziti i kompomeri su pokazali slična mehanička svojstva. Analizom varijanse (ANOVA) je pokazano da najveći uticaj na mehanička svojstva ima zapreminski, potom maseni udeo punilaca, dok je uticaj kategorije materijala bio slabiji ali i dalje statistički značajan. Punioci su imali najveći uticaj na savojni moduo elastičnosti (Ef), pa potom na savojnu čvrstoću (Fs), kompresivnu čvrstoću (Cs) i otpornost na dijametralno istežanje (DTS). Izdvojena mehanička svojstva nekih od testiranih kompozita iz studije Ilie i Hickel data su u Tabeli 2.

Tabela 2. Mehanička svojstva kompozita često korišćenih u kliničkoj praksi

Kompoziti	Fs (MPa)	Ef (GPa)	DTS (MPs)	Cs (MPa)
Z250	160,8	10,3	33,1	282,9
Herculite XRV	121,8	8,5	31,8	251,4
Tetric Ceram	116,9	8,1	39,2	248,0
Tetric Flow	114,7	4,8	38,6	257,3
Srednje vrednosti mehaničkih svojstava na nivou grupe i zavisno od prosečnog udela punilaca				
Kompoziti, (vol %) i mas % punilaca	Fs (MPa)	Ef (GPa)	DTS(MPs)	Cs (MPa)
Hibridni (60,5) 79,0	116,6	7,3	32,5	211,5
Tečni (48,4) 66,1	99,8	4,4	38,3	264,2
Ilie N, Hickel R. Investigations on mechanical behaviour of dental composites. Clin Oral Investig. 2009 Dec;13(4):427-38. (Ilie and Hickel, 2009a)				

Klinički neuspesi su najčešće posledica sekundarnog karijesa i pucanja restauracije (Sarrett, 2005). Odnosno, primarni razlog neuspeha u prvih 5 godina je bilo pucanje restauracije (Brunthaler et al., 2003), dok je kod dužeg praćenja, tokom 6-17 godina, osnovni razlog neuspeha postao sekundarni karijes. Velike restauracije po pravilu doživljavaju neuspeh zbog frakture (Van Nieuwenhuysen et al., 2003).

1.3.2. Uticaj punilaca na mehanička svojstva kompozita

Unapređenje punilaca je u poslednjim decenijama najviše uticalo na mehanička svojstva kompozita (Ferracane, 1995, Ferracane, 2011). Osim što punioci određuju mehanička svojstva materijala, povećanje udela punilaca smanjuje količinu monomera, pa posledično i polimerizacionu kontrakciju. Osim toga punioci optimizuju translucenciju, opalescenciju, radiokontrastnost, habanje i površinsku hrapavost, kao i manipulativnost samim materijalom. Veličina čestica punilaca koji se dodaju u komercijalne kompozite ima tendenciju smanjivanja, a mehanička svojstva na taj način bivaju unapređena.

Uticaj silika nano-punilaca u udelima 20, 30, 40 i 50 mas% na Fs, žilavost (Ft) i tvrdoću po Vickersu (HV) je testiran u eksperimentalnom BisGMA/TEGDMA kompozitu (Hosseinalipour et al., 2010). Povećanje udela punilaca je imalo negativan uticaj na Fs i Ft, a pozitivan na HV. Kontrolna grupa sa 60 mas% imala je lošija mehanička svojstva od kompozita sa više od 30 mas% nano-punilaca.

Hahnel i saradnici (Hahnel et al., 2012) su ispitivali uticaj različitog zapreminskog udela punilaca, kao i uticaj punilaca različitog prečnika na mehanička svojstva. Fs i Ef su značajno opali povećanjem udela punilaca sa 71,4 na 74,5 vol%, kao i sa povećanjem prečnika punilaca sa 1,5 na 2,5 μm . Povećanje gustine punilaca povećalo je Fs, Ef i HV.

Fs, Ef, HV i habanje su testirani u kompozitima sa dodatkom poroznih i neporoznih sfernih aglomerata kao punilaca, kao i neporoznih punilaca nepravilnog oblika u udelima 55, 65 i 75 mas% (Tamura et al., 2013). Zabeležen je porast otpornosti na habanje sa povećanjem udela punilaca, što je pozitivno uticalo i na druge mehaničke karakteristike. Punioci nepravilnog oblika i bez pora su iz kompozita ispadali u celosti pa je njihovim habanjem nastajala hrapava površina. Kompoziti sa poroznim puniocima imali su manje hrapavu površinu usled postepenog trošenja habanjem. Fs je bila manja, dok je HV sa poroznim puniocima bila viša nego sa neporoznim silika puniocima. Ef je kod kompozita sa udelom punilaca od 55 mas% bio značajno viši sa poroznim u odnosu na kompozit sa neporoznim i puniocima nepravilnog oblika. Porozni punioci zauzimaju

veći zapreminski udeo pri istom masenom udelu u odnosu na neporozne punioce, što može uticati na razlike u mehaničkim svojstvima materijala.

U studiji Picka i saradnika korišćeni su stakleni i silika nano-punioci u odnosu 3:1, veličine 20-50 nm. Stakleni punioci su bili dimenzija 1,5 μm i 2,5 μm . Udeo punilaca u svim grupama je bio > 87 mas%. Gustina i veličina punilaca nije imala uticaja na savojni moduo elastičnosti, kao ni na zapreminsku kontrakciju i polimerizacioni napon (Pick et al., 2011).

1.3.3. Uticaj arteficiojnog "starenja" na mehanička svojstva kompozita

Uticaj arteficiojnog "starenja" potapanjem u različite rastvore tokom 4 nedelje na mehanička svojstva kompozita ispitivan je u studiji Ilie i Hickel (Ilie and Hickel, 2009b). Kao medijumi za potapanje korišćeni su voda, alkohol/voda 1:1 ili veštačka saliva. Mehanička svojstva testirana na makro nivou (F_s i E_f) su najviše zavisila od medijuma skladištenja, dok su svojstva testirana na mikro i nano nivou više zavisila od samog materijala. Ispitivana mehanička svojstva su nakon potapanja bila slabija u odnosu na vrednosti izmerene nakon 24 h. Najnegativniji uticaj je imalo potapanje u alkohol, dok su voda i veštačka saliva slično uticali na mehanička svojstva kompozita.

Izlaganje kompozita tečnostima ima negativan uticaj na mehanička svojstva. Kao razlozi za pogoršanje navode se degradacija čestica punilaca (Soderholm, 1981), slabljenje polimernog matriksa (Ferracane et al., 1998) i/ili slabljenje veze punilaca sa organskim matriksom (Ferracane et al., 1998). Ferracane i saradnici (Ferracane et al., 1998) su testirali uticaj stepena konverzije, zapreminskog udela punilaca i silanizirajućeg agenta na mehanička svojstva materijala nakon starenja u vodi (F_t , F_s , E_f , Tvrdoću po Knapu (HK)). Generalno, slabljenja u mehaničkim svojstvima su bila umerena i ograničena na prvih 6 meseci potapanja. Kao osnovni razlog se navodi apsorpcija vode u organski matriks što izaziva njegovo razmekšanje usled bubrenja i smanjenja trenja između polimernih lanaca. Kad se polimerna komponenta zasiti vodom kompozit se stabilizuje i prestaje dalje slabljenje mehaničkih karakteristika. Pad tvrdoće se može objasniti omekšavajućim efektom molekula vode umetnutim u polimernu mrežu i taj efekat je ograničen izraženom umreženošću polimernih lanaca, čije veze se opiru bubrenju i daljem primanju molekula vode.

1.3.4. Kompoziti sa dodatkom hidroksiapatita

Labella i saradnici (Labella et al., 1994) su ispitivali kompozit sa dodatkom HAP-a (komercijalni, P81B, Plasma Biotal, Velika Britanija) u smole na bazi Bis-fenol A glicerolat dimetakrilat (BisGMA) / Tetrahidrofurfuril metakrilat ili Uretan-dimetakrilat (UDMA) / Tetrahidrofurfuril metakrilat (sa masenim odnosom smola 70:30). Dodavano je 60 i 67 mas% nesilaniziranog, odnosno 60, 67 i 80 mas% silaniziranog HAP-a veličine 7 μm , hrapave površine. Nakon toplotne polimerizacije eksperimentalnih kompozita utvrđeno je da je F_s u mešavinama sa UDMA-om veća, HV manja, a E_f podjednak u odnosu na mešavine sa BisGMA-om. Silanizacija HAP-a je značajno povisila F_s , HV i DTS (dijametralna otpornost na istezanje – otpornost na uvrtnje) eksperimentalnih kompozita. Povećanje udela HAP-a povećalo je E_f i HV, dok je na F_s u mešavinama sa BisGMA-om pozitivan uticaj bio zabeležen samo do udela HAP-a od 67 mas%. Sva tri udela HAP-a su u mešavinama sa UDMA-om negativno uticala na F_s u odnosu na nepunjenu mešavinu smola. DTS je opao povećanjem udela HAP-a.

Santos i saradnici (Santos et al., 2001) ispitivali su uticaj HAP punilaca na mehanička svojstva (F_s i E_f) i in vitro bioaktivnost u simuliranoj telesnoj tečnosti, kao i apsorpciju vode eksperimentalnih kompozita na bazi BisGMA/ Trietilenglikol-dimetakrilat (TEGDMA) (Santos et al., 2002). Korišćeni su HAP punioci veličine 3,15 μm u udelima 62,5 i 68 mas% i veličine 8,45 μm u udelima 53, 62 i 62,5 mas% nedefinisanog (nepravilnog) oblika. Kao kontrola korišćena je smeša smola bez punilaca (F_s -72 MPa, E_f -3,5 GPa). Udeo HAP-a je značajno uticao na E_f (sa većim HAP-om \rightarrow sa 8,5 na 10,8 GPa; sa manjim HAP-om \rightarrow sa 10 na 11,5 GPa) i F_s koja je opadala je povećanjem udela HAP-a (sa većim HAP-om \rightarrow sa 91 na 79 MPa, sa manjim HAP-om \rightarrow sa 95 na 94,5 MPa). Kompoziti sa HAP-om su imali bioaktivna svojstva. Za ispitivanje uticaja vode na kompozite sa HAP puniocima rađena su dva ciklusa apsorpcije i desorpcije (Santos et al., 2002). Koeficijenti difuzije bili su znatno veći u drugom ciklusu. Sorpcija vode smanjena je dodatkom HAP-a, posebno silaniziranog. Sa povećanjem udela HAP-a opao je ekvilibrijum sorpcije i smanjena je desorpcija. Rastvorljivost je dodatkom HAP-a porasla.

Domingo i Arcís sa saradnicima (Domingo et al., 2001, Arcis et al., 2002) ispitivali su mehanička svojstva (Fs, Ef, HV), površinsku hrapavost (profilometrom u 5 različitih pravaca) i sorpciju/rastvorljivost kompozita sa HAP puniocima. Korišćen je nano-HAP veličine 50-100 nm igličastog oblika u udelu od 50 mas% i mikro-HAP 1-5 μm u udelu od 60 mas%, silanizirani različitim silanima: limunskom kiselinom, hidrosucinatom, akrilnom i metakrilnom kiselinom. HAP je dodavan u eksperimentalne kompozite na bazi BisGMA/TEGDMA ili BisGMA/(Hidroksietil)metakrilat (HEMA) smola. Mehanička svojstva smola punjenih mikro-HAP-om bila su bolja u odnosu na svojstva smola punjenih nano-HAP-om. Limunska, akrilna i metakrilna kiselina kao silani poboljšali su Ef i Fs. Pokazano je da HEMA kao monomer u organskim mešavinama utiče na povećanje sorpcije vode i smanjenje površinske hrapavosti kompozita. HV nije zavisila od veličine i udela HAP-a. Kombinovanje HAP-a mikro i nano dimenzija u masenom odnosu 4:1 (Domingo et al., 2003) rezultiralo je slabijim mehaničkim svojstvima kompozita u odnosu na one punjene samo mikro-HAP-om. Korišćenje TEGDMA-e kao monomera umesto HEMA-e doprinosi smanjenju sorpcije i rastvorljivosti kompozita, izraženije u kompozitima punjenim nano-HAP-om u odnosu na one punjene mikro HAP-om.

Chen i saradnici (Chen et al., 2011) testirali su otpornost na biaksijalno savijanje (BFS) kompozita sa HAP trakama, kao i BFS, disperziju punilaca i sorpciju/rastvorljivost kompozita sa dodatkom HAP traka modifikovanih glikoksilanom (Chen et al., 2012). Korišćeni HAP je sintetisan transformacijom oktakalcijum fosfata u kristal HAP-a sa zadržavanjem morfologije pojedinačnog kristala (Zhan et al., 2005). U BisGMA/TEGDMA (1:1 mas%) smole, sa ili bez 60 mas% konvencionalnih punilaca veličine 0,7 μm , su dodavane HAP trake duge 60-80 μm , prečnika 100 nm sa odnosom dužine prema širini (aspect ratio) 600-800. U smolu je dodavano 5, 10, 20 i 40 mas% HAP-a, a u kompozitu je menjano 2, 3, 5, 7 i 10 mas% silika punilaca HAP-om. Mali udeo dodatog HAP-a (5 i 10 mas% u smoli i 2 i 3 mas% u kompozitu) je znatno poboljšao BFS (za 22,2% odnosno 29,2%), dok je u većim udelima dolazilo do slepljivanja čestica u snopove i do pada BFS. Silanizacija glikoksilanom poboljšala je disperziju HAP-a i dobijena su vlakna srednje dužine oko 15 μm . Sa 10 mas% silaniziranog HAP-a, BFS je značajno povećan (114,6 MPa) u odnosu na nepunjenu smolu (100,3 MPa), dok je u kompozitima došlo do značajnog poboljšanja zamenom 2,

3 i 5 mas% silika punilaca neglikoksilisanim (115,2, 112,7 i 118,4 MPa, redom) i glikoksilisanim HAP-om (127,5, 137,2 i 130,4 MPa, redom). Silanizacija HAP-a glikoksilanom povećala je sorpciju i rastvorljivost kompozita u koji su dodavani.

Zhang i saradnici su u seriji radova ispitivali kompozite na bazi BisGMA/TEGDMA/HEMA-e sa nano-HAP-om (278 x 52 nm u obliku aglomerata veličine 5-20 μm) i sa HAP trakama (duge 116 μm , aspect ratio-a 102) u smislu uticaja silanizacije (Zhang and Zhang, 2010b), biokompatibilnosti (Zhang and Zhang, 2010a) i uticaja na mehanička svojstva (Zhang and Darvell, 2012). Dodavano je 4-19 vol% (u poslednjoj studiji i više vol%) HAP-a. Silanizacija je smanjila veličinu nano-aglomerata, poboljšala vezu punilaca sa matriksom i disperziju punilaca (iako su trake i bez silanizacije bile dobro dispergovane), ali nije pozitivno uticala na mehanička svojstva kada se radi o dodatku HAP traka. Nakon 2, 4 i 8 nedelja potapanja u simuliranoj telesnoj tečnosti (SBF), na površini je stvoren sloj slabo kristaliziranog Ca-fosfata, što govori o bioaktivnosti ovakvih kompozita. Proliferacija i preživljavanje L929 ćelija pokazala smanjenje citotoksičnosti nakon dodatka HAP punilaca u smole. Kompoziti sa trakama su generalno pokazali poželjnije karakteristike u odnosu na kompozite sa nano-HAP-om. F_s je opala dodatkom nano-HAP-a, dok je sa trakama nepromenjena. E_f značajno povećan dodatkom HAP-a (sa 19 vol% nano-HAP-a za 43%, a sa 19 vol% traka za čak 225%). F_t sa nano-HAP-om opala, a sa HAP trakama porasla. HV je povećana sa oba tipa HAP-a. Svojstva kompozita sa 19 vol% HAP traka bile su : $E_f=7,8$ GPa, $F_s=104$ MPa, $HV=79,3$ kgf/mm² i $F_t=1,61$ MPa $\sqrt{\text{m}}$, što se približava ili prevazilazi svojstva kompozita koji se trenutno koriste za restauraciju bočnih zuba.

Liu i saradnici (Liu et al., 2013) ispitivali su uticaj oblaganja HAP traka sa poli-BisGMA-om na stepen konverzije, mehanička svojstva (F_s , E_f i C_s -kompresivna čvrstoća) i zapreminsku kontrakciju (merenu testom gustine po Arhimedovom zakonu) kompozita sa dodatkom HAP-a kao jedinog punioca u udelu 48 mas%. Oblaganje HAP-a smanjilo je zapreminsku kontrakciju kompozita, ali je smanjen stepen konverzije smola. F_s je dodatkom HAP traka sa najmanje smole poboljššan, dok nije primećen pozitivan uticaj na ostala mehanička svojstva.

Rezultati mehaničkih svojstava kompozita sa HAP-om iz prethodnih studija sumirani su u Tabeli 3.

Tabela 3 . Sumirani rezultati mehaničkih svojstava kompozita sa HAP puniocima

Autor, godina	Kontrola	HAP	Tvrdoća po Vickersu	Otpornost na savijanje	Savojni moduo elastičnosti	Otpornost na dijametralno istezanje
Labella 1994	Nepunjena smola	7 μm 60, 67 i 80 mas%	↑povećanjem udela	↓povećanjem udela	↑povećanjem udela	↓povećanjem udela
Santos 2001	Nepunjena smola	3 i 8 μm 53-68 mas%		↓povećanjem udela Povećana u odnosu na kontrolu	↑povećanjem udela povećan kod manjeg HAP-a	
Domingo 2001	Nepunjena smola	Nano 50-100 nm i mikro 1-5 μm 50-60 mas %	Nepromenjen	Veći sa dodatkom mikro-HAP-a		
Chen 2011	Nepunjena smola	60-80 μm duge trake, prečnika 300 nm 5, 10, 20, 40 mas % u smoli 2, 3, 5, 7 i 10 mas% u kompozitu	Otpornost na biaksijalno savijanje			
	kompozit sa 60 mas % punilaca		Najmanja dva udela u oba slučaja povećala BFS Veći udeli negativno uticali			
Zhang 2012	Nepunjena smola	Nano 52x278 nm i trake duge 116 μm 4-19 vol%	↑povećanjem udela	Sa nano ↓, Sa trakama nepromenjen	↑ dodatkom HAP-a	Žilavost Sa nano ↓, ↑ sa trakama
Liu 2013	Kompozit sa HAP trakama	HAP trake obložene smolom	Stepen konverzije	Savojna čvrstoća	Kompresivna čvrstoća i savojni moduo elastičnosti	Zapreminska kontrakcija
			pogoršan	Poboljšana sa najmanjim udelom grafta	nepromenjeni	smanjena

1.4. Adhezivni sistemi

Ranija klasifikacija dentalnih adhezivnih sistema po generacijama je praktično napuštena u savremenoj naučnoj literaturi i zamenjena klasifikacijama koje daju više informacija bilo o kliničkom načinu korišćenja određenog adheziva, njihovom sastavu ili o njihovom uticaju na razmazni sloj. Upravo takva je i klasifikacija po Van Meerbeeku i saradnicima (Van Meerbeek et al., 1998) na:

- 1) jednofazne ili dvofazne adhezive koji MODIFIKUJU razmazni sloj;
- 2) dvofazne i trofazne adhezive koji UKLANJAJU razmazni sloj i
- 3) dvofazne adhezive koji RASTVARAJU razmazni sloj.

Prva grupa predstavlja sisteme koji ne kondicioniraju zubna tkiva, već se vezuju za razmazni sloj bez njegovog uklanjanja, a dvofazni su ukoliko se pored adheziva koristi i prajmer. Ovi adhezivni sistemi uvedeni su sa namerom da se razmazni sloj zadrži kao barijera koja štiti pulpno tkivo i sprečava gubitak dentinske tečnosti. Adhezivi iz prve grupe samo površinski reaguju sa dentinom, a za primenu na gleđi zahtevaju njeno selektivno nagrivanje kiselinom. U drugoj grupi adhezivnih sistema koristi se kiselinsko nagrivanje ('total-etch') za uklanjanje razmaznog sloja, nakon čega se aplikuje adheziv (dvofazni) ili prajmer pa adheziv (trofazni). Treću grupu čine adhezivi koji u sebi sadrže samonagrivajuće prajmere (dakle prajmeri kondicioniraju dentin) koji delimično ili potpuno rastvaraju razmazni sloj ali se on ne ispira.

Osim ove, postoji i klasifikacija modernih adhezivnih sistema zavisno od načina kliničkog korišćenja, koja je češće u upotrebi na (Van Meerbeek et al., 2003):

- 1) etch-and-rinse ili 'total-etch' – adhezivi sa kiselinskim nagrivanjem i ispiranjem
- 2) 'self-etch' – samonagrivajući adhezivi bez ispiranja.

Prvi tip sistema sa procedurom u tri koraka se i dalje smatra zlatnim standardom u pogledu jačine veze, ali formirani kompleks između smola i kolagenih vlakana je sklon degradaciji usled sorpcije vode i mogućih degradacionih procesa podstaknutih

bakterijskim enzimima. Prava hemijska interakcija ovde izostaje i adhezija se zasniva na mikromehaničkoj vezi zahvaljujući difuziji pa polimerizaciji smolastih produžetaka u dentinske kanaliće i u interfibrilarne prostore kolagene mreže.

Drugi tip adheziva sa samonagrizanjem mogu imati različit stepen kiselosti i to: jaki sa $\text{pH} < 1$, srednje jaki sa $\text{pH} \approx 1,5$, blagi sa $\text{pH} \approx 2$ i ultra blagi sa $\text{pH} \geq 2,5$ (Van Landuyt et al., 2007). Ovi adhezivi nagrizzaju samo razmazni sloj, a kako nema faze ispiranja rastvoreni kalcijum-fosfat ostaje u prelaznoj zoni i biva inkapsuliran smolom u eksponiranim kolagenim vlaknima i kao takav manje je sklon rastvaranju. Adhezivi jače kiselosti ostvaruju slabiju vezu sa dentinom jer je više rastvorenog kalcijum fosfata, ali sa gleđi naprotiv ostvaruju jaču vezu u odnosu na manje kisele adhezive. Srednje kiseli adhezivi, u interakciji sa razmaznim slojem i preostalim HAP-om koji štiti kolagena vlakna, formiraju submikronski hibridni sloj. Funkcionalni monomeri poput 10-Metakriloiloksidecil dihidrogen fosfata (10-MDP) dokazano reaguju sa ovim zaostalim hidroksiapatitom putem primarnog jonskog vezivanja, tako da je veza kombinacija mikromehaničke i hemijske, nalik onoj kod glas-jonomera (Van Meerbeek et al., 2003). Upotreba hidrofilnih prajmera i hidrofobnijih adheziva zasebno doprinosi trajnosti veze. Primena adheziva u jednom koraku remeti konverziju smola, smanjuje jačinu veze sa zubnim tkivom a povećava osmozu vode iz okolnog dentina, podstiče faznu separaciju ukoliko ne sadrži HEMA-u i uzrokuje niz drugih negativnih posledica (De Munck et al., 2009).

Adhezivni materijali koji se hemijski vezuju za tvrda zubna tkiva i to glas jonomeri i smolom modifikovani glas jonomeri ostvaruju submikronsku hibridizaciju kombinovanu sa dobro dokazanom jonskom interakcijom polialkilne kiseline (karboksilne gupe) sa Ca iz HAP-a. U novije vreme su se pojavili i samoadhezivni kompoziti i kompozitni cementi (Poitevin et al., 2013, Bektas et al., 2013, De Munck et al., 2004), koji skraćuju kliničku proceduru aplikacije i kombinuju svojstva adheziva i kompozita. Prvi takav cement je bio RelyX Unicem (3M ESPE; St. Paul, MN, USA), koji se pojavio 2002. godine (Radovic et al., 2008). Predstavljen je kao materijali koji sadrže multifunkcionalne monomere i kisele grupe fosforne kiseline, pa istovremeno vrši demineralizaciju i infiltraciju u zubna tkiva. Slično klasičnim adhezivnim sistemima, vezuju se slobodno-radikalskom polimerizacijom iniciranom svetlošću ili po

principu samovezivanja, sa posledičnim nastajanjem polimernih lanaca velike molekularne mase. Kako bi se osigurala neutralizacija kiselih komponenti materijala, primenjen je koncept korišćen u glas-jonomer cementima, odnosno korišćenje alkalnih punilaca, čime je pH podignut sa 1 na 6 (Radovic et al., 2008). Fosforna kiselina delom neutrališe reakcijom sa HAP-om iz zubnih tkiva. Voda nastala u ovoj reakciji neutralizacije doprinosi inicijalnoj hidrofilnosti materijala, pa poboljšava prijanjanje materijala i tolerisanje vlažnosti dentina, a u daljim reakcijama doprinosi delovanju kiselih funkcionalnih grupa monomera i otpuštanju fluora iz alkalnih punilaca, što konačno, nakon utroška vode, materijal čini hidrofobnim, zbog čega se ovi materijali nazivaju inteligentnim materijalima. Smatra se da je veza koju ovi materijali ostvaruju sa zubnim tkivima kombinacija mikromehaničke i hemijske. Jačina adhezije za dentin je uglavnom zadovoljavajuća (Radovic et al., 2008) i dodatno je povećana ako se polimerizacija inicira svetlošću. Kiselinsko nagrivanje dentina utiče jako loše na vezu, dok se za gleđ preporučuje selektivno nagrivanje (Poitevin et al., 2013). Postizanje nagrivanja isključivo gleđi u kliničkoj praksi nije jednostavno, što predstavlja manu ovih sistema. Aplikovanje materijala pod pritiskom se takođe preporučuje (Poitevin et al., 2013, Radovic et al., 2008).

Za uspostavljanje adhezije sa gleđi preporučuju se adhezivi sa kiselinskim nagrivanjem, potvrđujući da je mikromehanička retencija sasvim dovoljna da obezbedi dugotrajnu vezu sa gleđi. Za vezu sa dentinom umereno samonagrivajući adhezivi imaju prednost obzirom da uspostavljaju i hemijsku vezu sa HAP-om (Van Landuyt et al., 2007).

Protokolom selektivnog nagrivanja, koji kombinuje kiselinsko nagrivanje gleđi, a bez nagrivanja dentina ostvaruje se jaka mikromehanička veza, dok se sa dentinom ostvaruje veza po samonagrivajućem protokolu koja se bazira na prisustvu funkcionalnih monomera i kombinovanoj hemijsko-mehaničkoj vezi, koja je otpornija na biodegradaciju (De Munck et al., 2012, Hanabusa et al., 2012). Selektivno nagrivanje gleđi sa primenom samonagrivajućeg adheziva i na gleđ i na dentin trenutno predstavlja zlatni standard u adhezivnoj stomatologiji (Van Meerbeek et al., 2010a, Van Meerbeek and Yoshihara, 2014).

U oba slučaja, bilo da zub nagriža kiselina ili kiseli monomeri, prirodni zubni mineral, HAP biva uklonjen iz zubnih tkiva i obrazuje se prepoznatljiv nagrizeni reljef pogodan za vezu sa smolama (Yoshioka et al., 2002).

1.4.1. Ostvarivanje veze sa dentinom

Dentin je kompleksno tkivo za ostvarivanje veze sa restaurativnim materijalima, odnosno adhezivnim sistemima (Marshall et al., 1997, Pashley and Carvalho, 1997). Regionalne razlike u strukturi dentina, prisustvo zona sa većim i manjim mineralnim udelom (peritubularni i intertubularni dentin), odnosno prisustvo samih tubula, uzrokuje neuniformno ponašanje ovog tkiva prilikom kiselinskog nagrivanja (Marshall et al., 1997, Uno and Finger, 1996). Za vreme kiselinskog nagrivanja iz dentina se ekstrahuje mineralna faza iz zone široke do 10 μm (Sencer et al., 2001, Santini and Miletic, 2008), zavisno od koncentracije i tipa primenjene kiseline, načina aplikovanja kiseline, kao i vremena u toku koga kiselina deluje (Wang and Spencer, 2004). Sastav tretiranog dentina znatno se razlikuje od mineralizovanog dentina (Wang and Yao, 2010). Iako mineralna komponenta nagrivanjem biva uklonjena iz dentina, mikro-Raman spektroskopijom je utvrđeno da u superficijalnom delu zaostaju minerali, dok su iz dubljih delova oni lakše uklonjeni (Wang and Yao, 2010). Ako je zona demineralizacije znatne debljine ili ukoliko se voda koja podupire kolagena vlakna ukloni bilo vazдушnim sušenjem ili nekim drugim načinom, kolagena mreža će kolabirati. Kolaps kolagene mreže smanjuje poroznost zone i sprečava prodiranje smole između kolagenih vlakana kroz demineralizovan dentin, formirajući barijeru. Sve ovo ima za posledicu slabljenje veze između adheziva i dentina i obrazovanje spoja koji je sklon degradaciji (De Munck et al., 2009).

Kod kiselinskog nagrivanja dentina ili primene jako kiselih samonagrivajućih adheziva demineralizuje se suviše debeo sloj dentina koji teško biva u potpunosti infiltrisan smolama i tako debeo hibridni sloj je sklon degradaciji (Yoshida et al., 2004). Srednje kiseli samonagrivajući adhezivi samo delimično demineralizuju dentin zuba, pri čemu na kolagenim vlaknima ostaje izvesna količina hidroksiapatita (Nakabayashi and Saimi, 1996), koja može da posluži za eventualno uspostavljanje hemijske veze sa funkcionalnim monomerima iz istog adheziva. Yoshida i saradnici (Yoshida et al., 2004) su ispitivali uspostavljanje veze između tri funkcionalna monomera: 10-MDP-a,

4-metakriloksietil trimelične kiseline (4-MET) i 2-metakriloksietil fenil hidrogen fosfata (phenyl-P), sa sintetskim hidroksiapatitom i utvrdili uspostavljanje stabilne hemijske veze između 10-MDP-a i HAP-a, otporne na rastvaranje Ca jona u vodi. Druga dva funkcionalna monomera su uspostavljala ili slabu vezu ili je ta veza bila hidrolitički nestabilna.

1.4.2. Merenje jačine veze adheziva i zubnih tkiva

Podaci u literaturi o jačini veze materijala i zubnih tkiva dosta variraju, čak i kad se radi o istom materijalu u različitim uslovima vezivanja. Kao jedno od objašnjenja za ovakve nalaze, koji neretko isti materijal rangiraju savim drugačije, navodi se testiranje ne samo adheziva već čitavog sklopa sačinjenog iz zubnih tkiva, adheziva i restaurativnog materijala, dakle dobrim delom nepoznatih kombinacija mehaničkih svojstava i uticaja faktora zavisnih od oblika. Način testiranja jačine adhezije takođe se često razlikuje, bilo da je u pitanju protokol pripreme dentinske površine, postupak nanošenja adhezivnog sistema, način i dužina skladištenja uzoraka do samog testiranja, ili uslova pri izvođenju samog testa. Osim navedenoga, neka standardno utvrđena kontrola koja bi se koristila za poređenja u svim ispitivanjima nije ustanovljena, tako da se zaključivanje i tumačenje rezultata uglavnom svodi na poređenje sa kontrolnom grupom iz svakog ispitivanja pojedinačno.

Makro-smicanje se kao test za određivanje adhezije koristi u 26% slučajeva, mikroistezanje u 60%, mikrosmicanje u svega 7% slučajeva (Van Meerbeek et al., 2010a).

Eksperimentalni faktori koji mogu uticati na različite rezultate po Leloup-u i saradnicima (Leloup et al., 2001) mogu da se svrstaju u 4 grupe:

- 1) Faktori vezani za same zube-dentinski supstrat,
- 2) Svojstva kompozitnog materijala koji se koristi kao nadgradnja na adhezivnu vezu-kompozitna krutost;
- 3) Uslovi skladištenja bondiranih uzoraka (npr. termocikliranje, mehaničko opterećivanje...);

4) Dizajn samog testa, poput brzine upirača ili isteživača kojim se deluje na uzorak, dimenzija samog uzorka i niz drugih faktora.

Uticaja na dobijene rezultate imaju i deo korišćenog dentina (debljina dentina; tip-primarni, sekundarni, tercijarni; širina i prohodnost kanalića; mehanička svojstva dentina; ponašanje pri nagrizanju...), tip zuba, pulpni pritisak, temperatura za skladištenje zuba, maksimalno vreme skladištenja zuba do upotrebe, tip i krutost upotrebljenog kompozita, medijum, temperatura, vreme skladištenja uzoraka, eventualna primena cikliranja termičkog i/ili mehaničkog itd (Leloup et al., 2001). Veličina površine bondiranja značajno utiče na jačinu veze i to veća površina bondiranja rezultuje slabijom jačinom adhezivne veze. Ovi nalazi se objašnjavaju povećanjem broja defekata na adhezivnom spoju kada je on veće površine (Sano et al., 1994b, Phrukkanon et al., 1998). Kompozit sa većim modulom elastičnosti uzrokuju da izmerene vrednosti jačine sile adhezije budu više (Leloup et al., 2001).

Scherrer i saradnici (Scherrer et al., 2010) poredili su jačinu adhezije ispitivanu različitim metodama. Isti adheziv zavisno od načina testiranja dao je različite vrednosti jačine adhezije, npr OptiBond FL makrosmicanjem daje vrednost 23,1 MPa, mikrosmicanjem 22,7 MPa, makroistežanjem 18,7 MPa i mikroistežanjem 48,0 MPa; Clearfil SE Bond makrosmicanjem daje vrednost 23,3 MPa, mikrosmicanjem 41,5 MPa, makroistežanjem 22,9 MPa i mikroistežanjem 42,5 MPa. Generalni zaključak je da što je manja površina bondiranja to su više vrednosti jačine veze (kod makro testova ona je otprilike 7 mm², a kod mikro testova oko 1 mm²) i da je ovakav rezultat posledica veće verovatnoće prisustva defekata kritične veličine što pokazuje i proračun Weibul-ove distribucije.

Heintze i Zimmerli (Heintze and Zimmerli, 2011) poredili su mikro i makro testiranje jačine adhezije i zaključili da su mikro ispitivanja osetljivija zbog male površine sa adhezivom, pa je veća učestalost neuspeha pre testiranja samog uzorka, što sve remeti rezultate ako nije na odgovarajući način statistički obrađeno. Vrednosti dobijene testiranjem više uzoraka od jednog istog zuba nisu statistički nepovezane i nezavisne i više utiče specifičnost tog pojedinog dentinskog supstrata, nego kada broj testiranih uzoraka znači i broj upotrebljenih zuba. Prednost mikro ispitivanja je što štede zubna tkiva.

Van Meerbeek i saradnici (Van Meerbeek et al., 2010b) pokušali su da nađu vezu između rezultata testova za jačinu adhezije i kliničkog ishoda. Stepenn korelacije između godišnje stope kliničkog neuspeha i podataka o jačini veze smicanjem iznosio je 0,81. Klinički pokazatelji poput gubitka retencije, marginalnog integriteta i diskoloracije bili su u slaboj korelaciji sa vrednostima jačine adhezije dobijenim in-vitro testovima. Vrednosti jačine veze mikroistezanjem nisu bile u korelaciji sa kliničkim indeksima za praćenje kvaliteta restauracija. Tek testovi mikroistezanja koji su podrazumevali i starenje uzoraka od 6 meseci su dali rezultate koji su bili u korelaciji sa marginalnom diskoloracijom V klase restauracija. Neovisno o tipu testa, nije pronađena korelacija u odnosu na kliničku sliku V klase restauracija posle 2 i 5 godina. Jednina utvrđena korelacija odnosila se na uzorke koji su pre merenja jačine veze sa dentinom starenjeni i to samo u odnosu na kliničku sliku restauracija 5 godina nakon postavljanja.

1.4.3. Dodatak punilaca u adhezive

Dentalni adhezivi su pretrpeli mnogobrojne promene u cilju poboljšanja i pojednostavljenja kliničkih procedura za njihovo korišćenje. Među nastojanjima da se unaprede njihova mehanička svojstva odnosno jačina veze za zubna tkiva je i dodatak punilaca (Van Landuyt et al., 2007). Ranije studije su pokazale različit uticaj staklenih i kvarcnih punilaca na jačinu veze za dentin (Nunes et al., 2001, Frankenberger et al., 2001). Stakleni punioci nano-dimenzija su pokazali sklonost obrazovanju aglomerata u adhezivnom sloju, na ulazu u dentinske kanaliće (Tay et al., 1999) ili unutar samih dentinskih kanalića (Frankenberger et al., 2001).

Dodatak silaniziranih silika-mikropunilaca u komercijalni bond (Imperva bond) veličine 0,05 μm , u udelima 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 i 70 mas% značajno je uticao na jačinu veze testiranu smicanjem. Najviše vrednosti jačine veze (značajno više u odnosu na kontrolu) postignute su sa 10 mas% punilaca (14,3 MPa) nakon čega su opadale daljim povećanjem udela punilaca. Uzorci sa 0, 10 i 20 mas% punilaca pokazivali su kohezivni tip loma u dentinu i ređe u kompozitu, dok su adhezivi sa preko 30 mas% punilaca pokazivali uglavnom adhezivni tip loma (Miyazaki et al., 1995).

U studiji sa poređenjem jačine adhezivne veze testirane istežanjem između komercijalnih adheziva bez (Single Bond) i sa puniocima (Optibond Solo) dobijene su

podjednake vrednosti. Korišćenje tečnog kompozita, zaštitnog lajnera ili dodatnog sloja adheziva samo je slabilo jačinu veze, ali bez statističke značajnosti (Montes et al., 2001).

U jačini veze testirane mikro-istezanjem u eksperimentalnom adhezivu sa dodatkom 0, 0,5, 1 i 3 mas% dobro dispergovanog hidrofilnog nano-punilaca veličine 12 nm, nije nađen statistički značajan uticaj, dok je sa 3 mas% zabeležen značajan pad u jačini veze u odnosu na adheziv sa 0,5 mas% punilaca, zbog formiranja velikih aglomerata (2 μ m) u kontaktu sa vlažnim dentinom. Step en konverzije (DC) je ostao nepromenjen, dok je savojna čvrstoća rasla sa povećanjem udela punilaca i to značajno povećanje je postignuto sa 1 mas% hidrofilnih nano-punilaca. Komercijalni adheziv (Prime&Bond NT) koji sadrži hidrofobne nano-punioce veličine 7 nm nije se po jačini veze (38,7 MPa) razlikovao od ovde ispitivanog eksperimentalnog adheziva sa 0,5 mas% hidrofilnih punilaca (Kim et al., 2005).

Silanizirani silika nano-punioći veličine 7 nm je u udelima 0, 1, 3, 5 i 10 mas% dodavan u eksperimentalni adheziv i u studiji Conde-a i saradnika. Autori su ispitivali kohezivnu otpornost (istezanjem uzoraka samog adheziva) i našli da je ona sa 10 mas% punilaca (85,5 MPa) veća u odnosu na otpornost nepunjenih smola (65,4 MPa) i slična komercijalnom adhezivu Adper Scotchbond Multi-Purpose (79,0 MPa) (Conde et al., 2009).

Dodatak organski modifikovanih (poliakrilnom kiselinom) pločica montmorilonita (glina) u eksperimentalni adheziv u različitim udelima (0,2, 0,5, 1, 2 i 5mas%), povećao je jačinu veze testiranu mikro-smicanjem nakon dodatka 0,2 mas% punilaca. Disperzija je ovim organskim modifikovanjem poboljšana za 25 puta. Sa nižim udelima punilaca bila je prisutna penetracija adheziva u dentinske tubule, dok je kod većih udela većina tubula ostala prazna. Način loma bio je uglavnom adhezivni (Solhi et al., 2012).

Nanogelovima-funkcionalizovani prepolimeri (25 mas%) različite hidrofobnosti i veličine u rang u 10-100 nm su dodati u BisGMA/HEMA/rastvarač adheziv sa ciljem da kontrolišu hidrofobni karakter adheziva. Osim uticaja na ponašanje materijala u vodi

utvrđeno je i značajno povećanje jačine veze za dentin testirane mikro-istezanjem (Moraes et al., 2012).

1.4.4. Rastvarač u adhezivima

Spencer i saradnici (Spencer and Wang, 2002) ispitivali su pojavu fazne separacije u adhezivima na osnovu pojave zamućenja posle 30 s ultrazvučnog mešanja. Dodavano je 0-50 zapreminskih % vode u eksperimentalni BisGMA/HEMA adheziv i u komercijalni Single Bond adheziv. Komercijalni adheziv je pokazao faznu separaciju nakon dodatka 25 ili više vol% vode. Dodatak etanola u eksperimentalni adheziv je odložio pojavu fazne separacije u adhezivu usled dodatka vode (umesto 5-10 vol% vode moglo se dodati 25 vol% pre pojave fazne separacije). Veći udeo HEMA-e u odnosu na BisGMA-u takođe odlaže pojavu fazne separacije.

Monomerne mešavine različite hidrofilnosti različito zadržavaju rastvarač, bilo da je reč o etanolu ili o acetonu. Međutim ako deo rastvarača čini voda (30 % aceton ili etanol+20 % voda) hidrofilnost smola gotovo da nema uticaja na zadržavanje rastvarača i nakon isušivanja više rastvarača zaostaje u adhezivu, što je izraženije u adhezivu sa etanolom u odnosu na adheziv sa acetonom (Yiu et al., 2005).

Polimerizacija adheziva sa različitim sadržajem etanola (0-40 %) ima malog uticaja na stepen konverzije (najveća konverzija je sa 10 mas% etanola-87%, a najmanja sa 40% etanola-69%), ali znatno slabi mehanička svojstva adheziva: otpornost na istezanje, moduo elastičnosti i čvrstoću. Temperatura staklene tranzicije (govori o stepenu umreženosti polimerne mreže) znatno je opala sa povećanjem udela etanola (Ye et al., 2007).

Slična studija sa udelom etanola od 0, 30, 50, 70 i 90 vol% u monomernim mešavinama različite hidrofilnosti i pri različitom vremenu polimerizacije (20, 40, 60 i 120 s) utvrdila je da 30% etanola povećava stepen konverzije svih smolnih mešavina i produžava vreme njihove polimerizacije (Cadenaro et al., 2008). Ista autorka je u svojoj drugoj studiji pokazala da sa dodatkom 10% etanola, 4-9% etanola zaostaje čak i posle produženog isparavanja, a zbog smanjenog pritiska isparavanja (vapor pressure). Zaostala količina etanola olakšava konverziju ali smanjuje brzinu polimerizacije

(Cadenaro et al., 2009b). Ista autorka utvrdila je da se dentinska propustljivost kod korišćenja hidrofobnih monomernih smeša znatno više smanjuje ako je dentin zasićen etanolom umesto vodom. Kiselinom nagrižen dentin pa tretiran adhezivima u bilo kojim od testiranih uslova imao je veću propustljivost od dentina prekrivenog samo razmaznim slojem (Cadenaro et al., 2009a).

Kinetika difuzije, sorpcija/rastvorljivost u vodi u dentalnim adhezivima sa smolnim mešavinama rastuće hidrofilnosti je porasla, kao i sa dodatkom 5 ili 15% etanola. Dodatak etanola povisio je stepen konverzije naročito u najmanje hidrofilnim mešavinama. Međutim, dodatak etanola negativno je uticao na sorpciju i rastvorljivost bez obzira na viši stepen konverzije, naročito u hidrofilnijim smolnim mešavinama (Malacarne-Zanon et al., 2009).

Poređenje eliminacije acetona spontanom isparavanjem, vazдушnim sprejom ili sušenjem toplim vazduhom u trajanju 15, 30 ili 60 s, a u zavisnosti od hidrofilnosti smola pokazalo je da se aceton ni u jednom slučaju ne eliminiše u potpunosti, a najefektivniji način u njegovoj eliminaciji je primena toplog vazduha (40°C) naročito kod najhidrofobnijih smola. Procenat smanjenja mase prisutnog acetona nakon spontanog isparavanja iznosio je svega 1-4% i nije se razlikovao zavisno od hidrofilnosti smola. Stepen konverzije bio je veći nakon dužeg isparavanja, hidrofilnijih smolnih mešavina, ali samo kod spontanog isparavanja i primene nezagrejanog vazduha. Topao vazduh eliminiše značajnost vremena i hidrofilnosti smola (Bail et al., 2012).

Pongprueksa i saradnici (Pongprueksa et al., 2014) ispitivali su uticaj isparavanja rastvarača iz Single Bond Universal adheziva. Stepen konverzije je značajno opao usled gubitka celokupne ili polovine ukupno prisutnog rastvarača. Otpornost na istežanje adheziva kome su isparili rastvarači bila je veća u odnosu na one sa rastvaračem, ali je takav adheziv ostvarivao slabiju vezu sa dentinom.

1.4.5. Dodatak hidroksiapatita u adhezive

Sintetski HAP je sličan mineralima prirodnih zuba, štaviše dokazana je njegova bioaktivnost (We et al., 2005), koja je čak pospešena površinskim modifikacijama ili

dopiranjem silicijumom (Jokic et al., 2011). Basinis i saradnici (Basinis et al., 2012) su pokazali sposobnost HAP-a i staklenih nano-čestica veličine do 20 nm da se infiltrišu u demineralizovan dentin i ostanu tu kao centri za dentinsku remineralizaciju.

Dodatak HAP-a u dentalne adhezive slabo je ispitan. Tek nekoliko studija u poslednjih 5 godina se bavilo ovom temom (Sadat-Shojai et al., 2010, Zhang and Wang, 2012a, Zhang and Wang, 2012b, Leitune et al., 2013, Wagner et al., 2013).

Wagner i saradnici (Wagner et al., 2013) testirali su biomimetički i hidrotermalno sintetisane nano-HAP punioce u dentalnim adhezivima. Analizirani su jačina veze mikro-istezanjem, interakcija sa dentinom SEM mikrofografijama i distribucija nano-čestica TEM-om posle dodatka silaniziranog ili nesilaniziranog HAP-a veličine 20-70 nm, u udelima 0,2, 1, 5 i 10 mas% u Adper Scotchbond Multi-Purpose. Dodatak 1% biomimetičkog HAP-a (nepravilnog duguljastog oblika) i 5% hidrotermalnog HAP-a (nano-štapići) značajno je pojačalo adheziju, dok je dodatkom 10 mas% HAP-a došlo do značajnog pogoršanja jačine veze sa oba tipa HAP-a. Utvrđeno je da nano-čestice nisu dospele do hibridnog sloja zbog formiranja velikih aglomerata punilaca, koji su kod hidrotermalno sintetisanog HAP-a bili nešto manji i rede zastupljeni.

Leitune i saradnici (Leitune et al., 2013) dodavali su 0, 0,5, 1, 2, 5, 10 i 20 mas% silaniziranog nano-HAP-a (veličine 26,7nm) u aglomeratima veličine 1-10 μm u eksperimentalni adheziv na bazi BisGMA/TEGDMA/HEMA-e. Ispitivana je radiokontrastnost, DC, Fs, razmekšavanje u etanolu, jačina veze za dentin mikrosmicanjem i citotoksičnost čistog HAP-a. Dodatak 2 mas% HAP-a je povišio otpornost na smicanje sa 26,6 na 33,3 MPa. DC, Fs i radiokontrastnost su dodatkom HAP-a ostali nepromenjeni. Tvrdooća po Knupu (HK) je značajno porasla tek u grupama sa 10 i 20 mas% HAP-a. U svim grupama HK je značajno opala posle stajanja u etanolu, ali u grupama sa HAP-om je taj pad bio sve manji sa povećanjem udela HAP-a.

Zhang i Wang (Zhang and Wang, 2012a) testirali su efekat HAP-a na stepen konverzije samonagrizajućeg adheziva. U smole (2-bis-metakriloksietil fosfat) (2-MP) i HEMA sa masenim odnosom 1:1, dodavano je 0, 1, 2, 3 i 4 mas% HAP-a. Dodatak 4 mas% HAP-a doveo je do porasta DC sa 20% na 93,4% i do ubrzanja polimerizacije sa

0,42%/s na 3,21%/s, dakle polimerizacija je poboljšana i ubrzana. Poređenje efekta NaOH i HAP-a na polimerizaciju pokazalo je da je pH ustvari zaslužan za dobre rezultate, a verovatno i uticaj HAP-a na viskoznost. Poređenjem infracrvenog spektra pokazano je da 2-MP ostvaruje hemijsku vezu sa HAP-om.

Isti autori u daljem istraživanju (Zhang and Wang, 2012b) upoređivali su uticaj HAP-a na polimerizaciju samonagrizajućih adheziva različite agresivnosti, sa jako (pH=0,8) i srednje (pH=2,5) kiselim monomerima. Dodavano 0, 1, 3, 5 i 7 wt% HAP-a veličine 0,5-5 μ m. Samo u jako kiselom adhezivu drastično je povećana konverzija i ubrzana polimerizacija nakon dodatka HAP-a. U srednje kiselom povećanje stepena konverzije i brzine polimerizacije nije bilo izraženo. HAP u kiselijem adhezivu povisio je pH za 0,8, a u srednje kiselom za samo 0,34 što je i osnovni razlog navedenih rezultata.

Osim uticaja kiselosti isti autori (Zhang and Wang, 2012c) ispitali su uticaj interakcije sa dentinom na povećanje stepena konverzije samonagrizajućeg adheziva. Isti eksperimentalni adheziv (2-MP/HEMA) sa dodatkom 0-40% vode su aplikovani bilo na pripremljenu dentinsku površinu ili na staklenu pločicu i poređen je DC pomoću Raman-mikrospektroskopije. Utvrđen je značajno veći DC na dentinu, kao i pad samog stepena konverzije u slojevima adheziva dalje od dentina. Konverzija je najviša u adhezivu sa 10 % vode kako na dentinu, tako i na staklenoj pločici, gde je uticaj vode znatno izraženiji.

U daljim istraživanjima Zhang i saradnici (Zhang et al., 2013) uočili su pojavu spontane polimerizacije u eksperimentalnom samonagrizajućem adhezivu nakon dodatka HAP-a, pri čemu je povećanje udela dodatog HAP-a (od 2 do 8 mas%) povisilo DC, ubrzalo polimerizaciju i smanjilo vreme potrebno za otpočinjanje polimerizacije. Iste efekte je imalo i povećanje udela koinicijatora (etil 4-dimetilaminobenzoat) u adhezivima sa HAP-om. Adhezivu sa dodatkom HAP-a je povećan Jungov moduo elastičnosti meren nanoidentacijom.

Sadat-Shojai i saradnici (Sadat-Shojai et al., 2010) testirali su uticaj HAP nano-traka na svojstava dentalnog adheziva na bazi UDMA/BisGMA/HEMA/TMPTMA sa dodatkom 40 mas% etanola. Praćeni su sledeći parametri: DTS, Fs, Ef, jačina veze za

dentin (mikrosmicanjem), dubina polimerizacije i koloidna stabilnost punilaca. Dodavano 0; 0,2; 0,5; 1; 2 i 5 mas% HAP-a. DTS i Fs su povišeni dodatkom 0,2 i 0,5 mas%, Ef je ostao nepromenjen. Najveća otpornost na mikrosmicanje zabeležena kod adheziva sa dodatkom 0,2 mas% HAP-a. Nano-trake su zahvaljujući svom izraženom površinskom naelektrisanju utvrđenom merenjem zeta potencijala, dobro dispergovane u adhezivu i ne slepljuju se.

Isti autor (Sadat-Shojai, 2009) poredio je koloidnu stabilnost solvo i hidrotermalno sintetisanog nano-HAP-a u eksperimentalnom dentalnom adhezivu na bazi Trimetilolpropan Trimetakrilat (TMPTMA) /HEMA/BisGMA-e sa acetonom i etanolom. Dodavano je 1% nano-HAP-a sintetisanog hidrotermalno (veličine 46-65nm) ili 'solvo tretmanom' (veličine 75-98nm). Hidrotermalno sintetisane čestice su pokazale bolju koloidnu stabilnost. Hladno sintetisane čestice potpuno se istalože nakon 2h.

Shinkai i saradnici (Shinkai et al., 2009) sintetisali su novi adheziv sa kalcijum-fosfatima za direktno prekrivanje pulpe. Poređena su četiri oblika kalcijum-fosfata od koji je jedan i HAP (sferičnog oblika, veličine 10 μm), dodavan kao 5 i 10 mas% u adheziv ili u kombinaciji sa β -trikalcijum fosfatom (vajtloktit), po 5 mas% od svakog. Prilikom aplikacije adheziva simulirana je procedura koja se koristi kod akcidentalnog otvaranja zubne pulpe sa primenom sredstava za hemostazu. Jačina adhezije testirana je mikroistezanjem i adheziv sa 10 mas% HAP-a pokazao je jačinu veze najpribližniju komercijalnoj kontroli, mada se nijedna grupa nije značajno razlikovala od kontrole-komercijalnog adheziva sa sličnim organskim sastavom kao adheziv u koji su dodavani kalcijum-fosfati i koji takođe sadrži punioce. Mikroskopom sa 35x uveličanjem beležen je i tip loma uzoraka, gde je uočen manji udeo adhezivnih lomova kod adheziva sa 5 mas% HAP-a.

1.5. Dentalni inserti

Inserti su fabrički proizvedeni najčešće keramički blokovi u različitim veličinama, oblicima i bojama, pogodni za aplikovanje u zubne kavitete. Cilj uvođenja

inserterata bila je jednostavnija, brža i ekonomski povoljnija restauraciju zuba u odnosu na klasične indirektno inleje.

Inserti su dostupni na tržištu od kasnih 1980-tih godina uvođenjem tzv. megapunilaca u kombinaciji sa kompozitima. Rani oblici inserta su bili megapunioci (Federlin et al., 2000, Tani et al., 1993), a tek naknadno su se počeli proizvoditi inserti koji svojim dimenzijama odgovaraju veličini kaviteta (Strobel et al., 2005, Hahn et al., 1998).

Dva osnovna tipa modernih insertnih sistema su sa ili bez preparacionih instrumenata čije dimenzije odgovaraju standardizovanim veličinama samih inserata. Obzirom da inserti ne polimerizuju nakon unošenja u zubni kavitet ostvaruje se dobra marginalna adaptiranost insertno/kompozitne restauracije, zahvaljujući smanjenju polimerizacione deformacije i usklađenijem koeficijentu termalne ekspanzije, kao i formiranju jačeg aproksimalnog kontakta, naročito pri sanaciji većih lezija.

Dostupni keramički sistemi su:

1. Beta-kvarc stakleni keramički inserti. Tek odskora su razvijeni i odgovarajući cilindrični i konični instrumenti za preparaciju kaviteta koji prate ove inserte. Postoje i u "L" obliku za fiziološko uspostavljanje aproksimalnog kontakta. Površina inserta je silanizirana ali je dostupna i tečnost za resilanizaciju kontaminiranih inserata.

2. SDS (Schumacher Dental System) inserti od feldspatne keramike nemaju posebno namenjene borere. Površina im je nagrižena, silanizirana i bondirana. Transparentni su kako bi se postigao kameleon efekat.

3. Cerafil leucitom-ojačani keramički inserti poseduju odgovarajuće borere, nagriženu i silaniziranu površinu.

4. SonicSys leucitom-ojačani keramički inserti su namenjeni pre svega za nesimetrične, proksimalne kavitete. Poseduju odgovarajući ultrazvučni boreri sa aktivnom samo jednom stranom zavisno da li se koriste za mezijalne ili distalne kavitete. Inserti imaju anatomske oblikovane proksimalne strane za postizanje kontakta

sa susednim zubom, dok se ostatak kaviteta popunjava gustim kompozitima. Površina inserta je nagrižena i silanizirana.

5. Cerana staklo keramički inserti su od translucetne keramike bez dodatka pigmenata. Postoje konični, endo i proksimalni inserti, kao i odgovarajući boreri za oscilirajuću tehniku preparacije. Površina inserta je nagrižena i presilanizirana.

Po našim saznanjima, HAP inserti nisu ranije testirani u stomatologiji.

1.5.1. Kontrola polimerizacione kontrakcije

Problem polimerizacione kontrakcije je vrlo aktuelna tema kada su u pitanju stomatološki restaurativni materijali. Mnogobrojni su pokušaji da se ona izbegne, odnosno umanju koliko je to moguće. Rešenju ovog problema prilazi se iz različitih pravaca, modifikacijom samih materijala ('low-shrinkage' monomeri, siloranski monomeri, itd.) (Yamasaki et al., 2013, Okamura et al., 2006), pokušajima da se smanji polimerizaciona deformacija (Schneider et al., 2010), modifikacijom same restaurativne procedure (postavljanje kompozita u više slojeva) (Soares et al., 2013, Kwon et al., 2012, Park et al., 2008), modifikacijom režima svetlosne polimerizacije (započinjanje polimerizacije 'soft-start' ili pulsним prosvetljavanjem) (Clifford et al., 2009). Jedan od pokušaja da se smanji polimerizaciona kontrakcija je i primena dentalnih inserata (Federlin et al., 2000).

1.5.2. Praćenje dimenzionalne stabilnosti nakon primene dentalnih inserata

Dimenzionalne promene u restauracijama koje sadrže keramički insert ranije su testirane testovima mikrocurenja (Salim et al., 2005, Basavanna et al., 2012, Harada et al., 1997, Hahn et al., 1998), mikroskopskim posmatranjem kontaktnog mesta u smislu mikropukotine, bilo direktno u *in vitro* uslovima ili mikroskopiranjem replika (Strobel et al., 2005, Dietschi and Herzfeld, 1998, Heintze et al., 2005, Kiremitci et al., 1998, Hahn et al., 1998). Ovo su indirektnе metode koje ne prate sam materijal već traže mikropukotinu, kao posledicu polimerizacione kontrakcije. Uticaj dodatka megapunilaca u kompozitni materijal i praćenje smanjenja zapremine rađeno je i metodom živinog kupatila (Tani et al., 1993). Upotreba β -kvarc keramičkih inserata umesto 31-38 vol% kompozita redukovala je polimerizacionu kontrakciju (Tani et al.,

1993). Cerana stakleni inserti su pokazali podjednake vrednosti rezultata mikrocurenja i bolju marginalnu adaptiranost u poređenju sa individualno napravljenim inlejmima (Hahn et al., 1998), a osmogodišnja klinička studija je potvrdila pozitivan efekat primene ovih inserata na svojstva kompozitnih restauracija (Millar and Robinson, 2006). Kiremitci i saradnici su upotrebom β -kvarc inserata pokazali zadovoljavajuće rezultate sa unapređenim kliničkim svojstvima po USHPS kriterijumima (Kiremitci et al., 1998), dok su Sjogren i saradnici, kao i Millar i Robinson pokazali čest porast površinske hrapavosti i neuklapanje boje restauracija sa insertom (Sjogren et al., 2000, Millar and Robinson, 2006).

Bosvana i saradnici (Basavanna et al., 2012) su ispitivali gingivalno mikrocurenje kod II klase restauracija sa fiber insertima. Testirani su stakleni i polietilenski fiber inserti sa ili bez tečnog kompozita. Preparisana je slot preparacija do 1 mm ispod gleđno-cementne granice sa mezo-disatalnim promerom 2 mm i buko-oralnim promerom 3 mm. Donji milimetar je popunjen kompozitom, adaptiran je insert od 3 mm pa restauracija prosvetljena 40 s i ostatak kaviteta završen kompozitom. Tečni kompozit je korišćen kao lajner. Nakon restauracije uzorci su potopljeni u vodu na 2 nedelje, na 37°C, pa termociklirani. Oba tipa inserta dovela su do smanjenja mikrocurenja bez obzira na materijal inserta i prisustvo tečnog kompozita.

Saber i saradnici (Saber et al., 2010) ispitivali su jačinu aproksimalnog kontakta kod II klase restauracija. Upoređivano je 7 metoda (različite matrice i separatori) od kojih je jedan od načina pojačanja proksimalnog kontakta bio i primena Cerana inserta. Insert je pojačao kontakt ali je on ipak bio jači kod korišćenja Eliot separatora i separacionog prstena. Najjači kontakt bio je kod korišćenja segmentne matrice u kombinaciji sa separacionim prstenom.

Millar i Robinson (Millar and Robinson, 2006) su tokom 8 godina pratili rezultate primene Cerana keramičkih inserata. Praćeni su oblik, adaptiranost, hrapavost, diskoloracija restauracija sa insertom cementiranim kompozitom. Diskoloracija se javljala na spoju kompozita i zuba u 6% slučajeva, dok nije uočena na spoju kompozita i inserta. Nije bilo restauracija koje su zahtevale zamenu. Površinska hrapavost tokom vremena je porasla za jedan stepen, a nakon 8 godina nije preostalo idealno glatkih

restauracija. Sledeće najugroženije svojstvo bila je marginalna adaptacija tj. pojačano habanje kompozita na mestima gde je bio eksponiran.

Strobel i saradnici (Strobel et al., 2005) ispitivali su je marginalni integritet ispunjena sa keramičkim insertima. Ispitivana su tri tipa inserata u kavitetima koji završavaju u gleđi i jedan aproksimalni tip u kavitetima ograničenim na dentin. Primenjeno je termomehaničko cikliranje, nakon čega su pravljene replike koje su analizirane SEM-om. Pre termocikliranja grupe se nisu međusobno razlikovale. Cerana i SonicSys inserti znatno su redukovali mikropukotinu prema gleđi, dok β -kvarc inserti nisu uzrokovali promene u odnosu prema gleđi. U dentinskim kavitetima, aproksimalni SonicSys insert nije unapredio marginalni integritet. β -kvarc inserti su ostvarivali najlošiju vezu sa kompozitom (posmatran marginalni integritet na spoju inserta i kompozitnog materijala).

Salim i saradnici (Salim et al., 2005) su ispitivali mikrocurenje oko staklo-keramičkih inserata u kombinaciji sa tečnim ili univerzalnim kompozitom. Nakon termocikliranja, inserti su doveli do smanjenja mikrocurenja samo u odnosu na ceo kavitet popunjen tečnim kompozitom. Restauracije sa insertima su imale bolje ocene i okluzalno i gingivalno kada su cementirani bilo tečnim ili univerzalnim kompozitom.

Heintze i saradnici (Heintze et al., 2005) su ispitivali marginalni kvalitet keramičkih inserata i keramičkih inleja nakon simulacije žvakanja. Korišćeno je sedam adhezivnih sistema. Na replikama je praćen procenat kontinuiranih margina. Inserti su pravljene laboratorijski od Empress II keramike, u veličini svega 25-50 μ m manjoj od veličine kaviteta. Tip adheziva nije uzrokovao razlike u kvalitetu marginalne adaptacije. Insert u odnosu na inlej je ostvario veći procenat dobrog marginalnog zaptivanja.

Dunn (Dunn, 2004) je prikazao klinički slučaj sa upotrebom prepolymerizovanog kompozitnog inserta. 'Insert' je u toku polimerizacije bio pritiskan kako bi uspostavio jači kontakt sa agonistom.

Gorucu (Gorucu, 2003) je ispitivao otpornost na lom kompozitnih restauracija II klase sa SonicSys inseratima. Restauracije su opterećivane drugim prirodnim zubom. Zabeležena je značajno povećana otpornost na lom u grupi sa insertima.

Sjögren i saradnici (Sjogren et al., 2000) su pratili β -kvarc inserte kod I i II klase kaviteta. Opstanak posle tri godine iznosio je 69% po kriterijumima Kalifornijske Dentalne Asocijacije, što je lošije nego kod kompozita i keramičkih nadoknada u bočnoj regiji. Površina restauracija sa insertima je često bila hrapava i boja upadljivo neodgovarajuća.

Federlin i saradnici (Federlin et al., 2000) uradili su pregled literature o upotrebi inserata-megafilera u kompozitnim restauracijama. Postavljanje inserata smanjilo je napone uzrokovane polimerizacionom kontrakcijom i ublažilo razliku u koeficijentu termalne ekspanzije između zubnih tkiva i restauracije. Kratkoročne kliničke studije utvrdile su poboljšanu marginalnu adaptiranost i povećanu otpornost na habanje kod restauracija sa upotrebeom inserata. Upotreba inserata dovela je do niza prednosti, ali kontakt inserta sa cementnim materijalom, habanje i otpornost na lom restauracija sa insertom su nedovoljno ispitani. Podaci o dugotrajnoj kliničkoj upotrebi inserata nisu dostupni.

Segura i Riggins (Segura and Riggins, 1999) ispitivali su otpornost na lom četiri različite restauracije za nadoknadu kvržica. Upoređivani su amalgam, amalgam sa bondom, kompozit sa β -staklenim kvarcnim insertom i kompozit sa adhezivom. Nije utvrđena statistički značajna razlika između ispitivanih grupa.

Dietschi i Herzfeld (Dietschi and Herzfeld, 1998) su ispitivali *in vitro* marginalno zaptivanje kod II klase kompozitnih restauracija nakon termomehaničkog cikliranja. Upoređivani su kompozit, kompozitni inleji, kompozitni inserti i inlej+dual bonding metoda sa polimerizovanjem adheziva u zubu pre oblikovanja samog inleja. Pravljen su replike koje su analizirane SEM-om. Kontinuitet marginalne adaptacije prema dentinu bio je u rasponu od 59% kod inlej do 87,9% kod inserata, ali su inserti prema gleđi pokazali slabiju marginalnu adaptaciju od kompozitnih inleja. Najbolja marginalna adaptacija postignuta je kompozitnim ispunima. Inleji su ostvarivali dobru vezu sa gleđi ali lošu sa dentinom, dok su inserti ostvarivali dobru vezu sa dentinom ali lošu sa gleđi.

Hahn i saradnici (Hahn et al., 1998) su ispitivali marginalno curenje kod II klase restauracija posle upotrebe keramičkih inserata cementiranih različitim materijalima. Nije utvrđena značajna razlika u prodoru boje između Empess inleja i Cerana inserata.

Kiremitci i saradnici (Kiremitci et al., 1998) su tokom dve godine pratili uspeh primene β -kvarc inserata, posmatranjem replika i klinički, kod 22 restauracije sa insertom. Praćena je uklopljenost boje, proksimalni kontakt, marginalni integritet i anatomska forma, ocenjivani po kriterijumima USPHS. U praćenom periodu uklopljenost boje je samo kod tri restauracije blago opala, proksimalni kontakt, anatomska forma i marginalni integritet su oslabili samo kod jedne restauracije. Pojava sekundarnog karijesa, marginalna diskoloracija i osetljivost zuba nije zabeležena.

Tani i saradnici (Tani et al., 1993) su pratili polimerizacionu kontrakciju i kontrakcione sile u kompozitnim restauracijama sa insertima. U kompozitni cilindar 5x5 mm ubacivana su po tri β -kvarc inserta da čine 15 vol% za merenje sila tj 31-38 vol% za merenje kontrakcije. Sila je merena posebno konstruisanim uređajem, a kontrakcija metodom sa živinim kupatilom. Kontrakcione sile tj. napon nisu se menjale ili su bile čak povećane nakon upotrebe inserata. Kao objašnjenje za ovakav nalaz navodi se formiranje krutog sloja na spoju sa keramikom koja ometa tečenje i relaksaciju napona u toku polimerizacije. Polimerizaciona kontrakcija smanjena je 30-34% nakon primene inserata.

1.5.3. Merenje dimenzionalne stabilnosti metodom korelacije slika

Metoda korelacije digitalnih slika je bezkontaktna metoda za merenje zapreminske kontrakcije. Bazira se na praćenju položaja površinskih markera (stohastične šare) pre i posle polimerizacije, na osnovu čega se pomoću specijalizovanog softvera izračunavaju deformacija i pomeranje. Metoda korelacije slika sa korišćenjem dve kamere, za dobijanje informacija o kontrakciji u tri dimenzije, koja je korišćena u istraživanju u ovoj doktorskoj tezi, detaljnije je opisana u poglavlju 5.2.

U prethodnim studijama korišćeni su sistemi sa jednom kamerom (Li et al., 2009a, Kweon et al., 2013, Lee et al., 2012, Chuang et al., 2011), koji su obezbeđivali informacije samo o pomeranju markera po jednoj površini, odnosno u jednoj ravni.

Sistemi sa dve kamere, koji omogućavaju merenje pomeranja i deformacije u sve tri dimenzije su ranije retko korišćeni (Milosevic et al., 2011, Martinsen et al., 2013). Pomenute studije nisu koristile prirodna zubna tkiva i adhezivne sisteme, pa je i njihova klinička relevantnost manja.

Martinsen i saradnici (Martinsen et al., 2013) su analizirali deformacije uzrokovane polimerizacionom kontrakcijom kompozita. Korišćeni su štapićasti uzorci kompozita, svetlosno polimerizovani sa bočne strane, nebondirani, u polimetilmetakrilatnim (PMMA) kalupima, dok je snimana podužna, otkrivena strana štapića. Maksimum pomeranja usled kontrakcije zabeležen je na 0,6-0,8 mm od prosvetljavane površine, na 3,2 mm značajno počinje da opada i na 4 mm je minimalan, odnosno dalje ga više i nema jer nema ni polimerizacije na većim dubinama (zbog udaljenosti od svetlosnog izvora polimerizacione lampe). Oko četvrtine ukupnog napona se razvija u toku samog prosvetljavanja.

Milošević i saradnici (Milosevic et al., 2011) su primenom dve kamere, pratili pojavu deformacije u tri dimenzije kod kompozita postavljenih u teflonske kalupe, debljine 2 mm i prečnika 5 mm. Pojava kontrakcije praćena je na strani diska okrenutoj kamerama, na kojoj je prskanjem bojom formirana stohastična šara pogodna za praćenje pomeranja pojedinačnih tački, dok je druga strana kompozita služila za prosvetljavanje polimerizacionom lampom. Utvrđena je neravnomerna distribucija kontrakcije sa koncentrisanjem na periferiji uzorka, gde je prosečno iznosila 3,5%. U centralnim delovima kompozita kontrakcija je prosečno iznosio 1-1,5%. Isti autori su u svojoj drugoj studiji (Miletic et al., 2011) primenom iste metode ispitivali pojavu kontrakcije kod običnog i samoadhezivnog tečnog kompozita i utvrdili kontrakciju od 7% u perifernom delu kompozita i 2,5% u središnjem delu po površini kompozita. Pomeranje duž z-ose je naprotiv bilo veće u unutrašnjim nego u spoljašnjim delovima materijala.

Chuang i saradnici (Chuang et al., 2011) su ispitivali uticaj veličine MOD kaviteta i primene lajnera ispod kompozita na polimerizacionu kontrakciju i defleksiju

kvržica, upotrebom metode korelacije digitalnih slika sa jednom kamerom. Veličina kontrakcije na površini restauracije zavisila je od geometrije kaviteta i od 'C' faktora, dok je defleksija kvržica bila u vezi sa dubinom kaviteta i geometrijom kvržica. Pomeranje od okluzalno ka gingivalno bilo je u opsegu 19-37 μm , a posle pola sata od završetka prosvetljavanja povećalo se za po još 2-5 μm . Pomeranje u odnosu na aksijalni zid bilo je veće u okluzalnom i srednjem (5-9 μm) nego u cervikalnom delu (2-6 μm).

Li i saradnici (Li et al., 2009a) su metodom korelacije digitalnih slika, korišćenjem jedne kamere ispitivali polimerizacionu kontrakciju. Zapreminska kontrakcija je izračunata tako što je pretpostavljeno da je kontrakcija van slikane ravni (duž z-ose) ista kao i duž x ili y pravaca. Uzorci kompozita bili su štapićasti 2x4x10 mm, pri čemu je prosvetljivano sa kraja štapića, a duža strana štapića je korišćena za praćenje pmeranja. Kontrakciono polje je bilo neuniformno. Maksimalno zapreminske kontrakcije je iznosio oko 1,5% i zabeležena je na 1 mm iza prosvetljivane površine. Na 4-5 mm od kraja štapića kontrakcija je iznosila 0,2%.

Lee i saradnici (Lee et al., 2012) su koristili jednu kameru za praćenje kinetike linearne polimerizacione kontrakcije, dakle praćenje pmeranja obojenih markera tj. stohastične šare tokom vremena. Linearne kontrakcije za konvencionalni kompozit je iznosila 0,7%, za tečni 1,41% i 0,33% za kompozit na bazi silorana. Pretpostavljena zapreminska kontrakcija tim redom bila je 2,11%, 4,22% i 0,98%.

Kweon i saradnici (Kweon et al., 2013) su ispitivali vektore kontrakcije u prostoru i vremenu tokom polimerizacije, upotrebom jedne kamere. Vrednosti su upoređene sa volumetrijskom kontrakcijom izmerenom korišćenjem Arhimedovog zakona. Vektori su bili usmereni ka centru materijala kod slobodnih uzoraka, odnosno ka bondiranim površinama kod bondiranih uzoraka, bilo za staklenu pločicu ili za zubni isečak sa preparacijom. Pomeranje u kompozitnom materijalu iznosilo je 17 μm na površini, 9 μm u sredini, sa orijentacijom ka pulpnom zidu, i 7 μm u pulpnom delu ali orjentisano ka okluzalno. Ovakav nalaz je objašnjen uticajem bondirane površine ali i slabljenjem intenziteta polimerizacione svetlosti u delovima ka pulpnom zidu. Na lateralnim zidovima pomeranje je iznosilo 5-7 μm . Pomeranje nebondiranog materijala

iznosilo je 20-30 μm , odnosno 0,75% linearno, dok je ono zapreminski bilo trostruko, odnosno 2,26%.

1.5.4. Druge metode za trodimenzionalno merenje polimerizacione kontrakcije

Trodimenzionalno merenje polimerizacione kontrakcije odskora se radi i mikro-kompjuterizovanom tomografijom (μCT) (Cho et al., 2011, Chiang et al., 2010, Zeiger et al., 2009, Sun and Lin-Gibson, 2008), praćenjem kretanja rendgen kontrastnih markera u materijalu. Cho i saradnici (Cho et al., 2011) su poredili kontrakciju i mehanička svojstva (nanoidentacija) bondiranih i nebondiranih uzoraka. Kod nebondiranih uzoraka vektori kontrakcije su bili usmereni ka svetlosnom izvoru, dok je kod uzoraka u zubu pomeranje bilo usmereno prema pulpi u gornjim delovima, ali se taj smer promenio u dubokim delovima kaviteta. Chiang i saradnici (Chiang et al., 2010) su kontrakcione vektore pratili u zubnom tkivu sa i bez adheziva. U nebondiranoj grupi vektori bili usmereni ka centru mase kompozita, sa pomeranjem od 31,3 μm , dok je u bondiranoj grupi pomeranje bilo dvojakom (kao u prethodnoj studiji) sa pomeranjem od 46,8 μm . Zeinger i saradnici (Zeiger et al., 2009) su μCT metodom ispitivali uticaj oblika restauracije na kontrakcione vektore, pravljenjem kaviteta iste zapremine ali različitog oblika. Nisu uočene razlike između kaviteta, a kontrakcija je iznosila 2,26%. Sun i Lin-Gibson (Sun and Lin-Gibson, 2008) su istom metodom ispitivali kontrakciju kod različitih BisGMA/TEGDMA smeši punjenih različitom količinom punilaca. Povećanjem udela TEGDMA-e sa 30 na 70%, kontrakcija je porasla sa oko 6 na oko 9%, dok je povećanjem udela punilaca kontrakcija opadala.

1.6. SVRHA, CILJEVI I ZADACI ISTRAŽIVANJA

Svrha istraživanja je procena mogućnosti primene HAP čestica u kompozitnoj i adhezivnoj smeši kao i u vidu inserata za nadoknadu dentina. Ciljevi istraživanja su: (1) ispitati uticaj HAP punilaca na stepen konverzije i mehanička svojstva kompozita inicijalno i nakon starenja materijala, (2) ispitati kvalitet veze sa dentinom adheziva sa HAP puniocima i (3) ispitivanje kvaliteta adhezivne veze presovanih i sinterovanih HAP inserata sa komercijalnim restaurativnim materijalima i dimenzione promene takve restauracije.

Zadaci istraživanja:

- Utvrditi optimalnu količinu HAP punilaca u eksperimentalnoj kompozitnoj smeši na bazi metakrilatnih monomera
- Ispitati uticaj zamene staklenih punilaca sa jednim od pet tipova HAP-a na stepen konverzije i mehanička svojstva kompozitne smeše, odnosno tvrdoću po Vickersu, savojnu čvrstoću, savojni moduo elastičnosti, pritisnu čvrstoću i pritisni moduo elastičnosti, inicijalno i nakon starenja u Henkovom rastvoru
- Ispitati uticaj dodatka dva tipa nano-HAP punilaca u udelima 0,5-1,5 mas% na jačinu adhezivne veze sa dentinom i tip loma restaurisanih dentinskih uzoraka
- Ispitati uticaj HAP inserata na kontrakciju i pomeranje materijala restaurisanim dentinskim diskovima u kombinaciji sa univerzalnim kompozitom, tečnim kompozitom ili glas jonomer cementom, kao i jačinu veze inserata i pomenutih materijala

Nulte hipoteze:

- Nema značajne razlike u stepenu konverzije i mehaničkim svojstvima eksperimentalnih kompozitnih smeša inicijalno, kao ni nakon starenja u Henkovom rastvoru
- Nema značajne razlike u jačini adhezivne veze sa dentinom restaurisanih dentinskih uzoraka adheziva sa i bez HAP punilaca
- Nema značajne razlike u polimerizacionoj kontrakciji i pomeranju materijala u restauracijama sa i bez HAP inserata
- Nema značajne razlike u jačini veze između HAP inserata i različitih restaurativnih materijala

2. MATERIJAL I METOD

2.1. Aparatura korišćena u istraživanju

- Analitička vaga ($d=0,1\text{mg}$, ACCULAB ALC-110.4, Sartorius AG, Goettingen, Nemačka) – Slika 2.
- Vorteks mikser (ZX3, Velp Scientifica, Usmate, Italija) – Slika 3.
- Centrifugalna mešalica (BIOFUGE PRIMO R, Heraeus, Hanau, Nemačka) - Slika 4.
- Rotator (Stuart, rotator SB2, Bibby-Scientific, Staffordshire, Velika Britanija) - Slika 5.
- LED lampa (LEDition, Ivoklar Vivadent, Schaan, Lihtenštajn) - Slika 6.
- Inkubator (Gamma Libero, Beograd, Srbija) - Slika 7.
- Testera (Buehler, Lake Bluff, IL, SAD) - sečenje zuba –Slika 8.
- Kidalica za merenje sile (savojna čvrstoća, smicanje)(FORCE GAUGE PCE-FM200, PCE Instruments Ltd., Southampton, Velika Britanija) - Slika 9.
- Uredjaj za merenje tvrdoće (Buehler Indentament 1100 series, Buehler, Lake Bluff, IL, SAD) – Slika 17.
- Uredjaj za merenje sile (Instron FastTrack 8800 Instron, High Wycombe, Velika Britanija): pritisna čvrstoća-Slika 22.
- Infracrveni spektrofotomtar (FTIR, Thermo Nicolet 380, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) za određivanje stepena konverzije – Slika 16.
- Skenirajući elektronski mikroskop - SEM (TESCAN FE-SEM Mira 3 XMU, Brno, Češka republika) – Slika 23.
- Ag-Pd naparivač (POLARON SC502, Fisions Instruments, Ipswich, Velika Britanija) - naparavanje uzoraka za SEM mikroskopiju - Slika 23.
- Oprema za praćenje polimerizacione kontrakcije i pomeranja materijala: dve kamere visoke rezolucije, PC sa specijalizovanim Aramis softverom (Aramis 2M, GOM, Braunschweig, Nemačka) – Slike 27 i 28.



Slika 2. Analitička vaga



Slika 3. Vortex mikser



Slika 4. Centrifugalna mešalica



Slika 5. Rotator



Slika 6. LED lampa



Slika 7. Inkubator



Slika 8. Testera



Slika 9. Kidalyca

2.2. Materijali korišćeni u istraživanju

- BisGMA (Bisfenol A glicerolate dimetakrilat, Sigma-ALDRICH, Nemačka)
- TEGDMA (Trietilenglikol-dimetakrilat 95%, ALDRICH, Nemačka)
- CQ (Kamforhinon 97%, Sigma-ALDRICH, Nemačka)
- DMAEMA (2-(Dimetilamino)etil metakrilat, 98%, ALDRICH, Nemačka)
- Silanizirano barijumsko staklo – punioci veličine 0,7 μm (SILANATED 0,7 MICRON BBAS GLASS 33%BAO, Esstech)
- Barijum borosilikatno staklo – punioci 7,5 μm (E3000 BARIUM BOROSILICATE GLASS, Esstech, V-117-1075, LOT:608-49-04)
- Single Bond Universal (3M ESPE, St. Paul, MN, SAD)
- TeEconom Bond (Ivoclar Vivadent, Schaan, Lihtenštajn)
- Henkov rastvor (HBSS, Hank's Balanced Salt Solution bez Fenol Crvenog, Lonza, Verviers, Belgija)
- Sprej Kenda Color Acrilico, Kenda Farben: za formiranje crno-bele stohastične šare za praćene kamerama

2.3. Hidroksiapatiti korišćeni u istraživanju

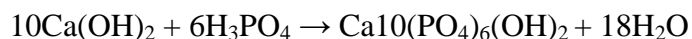
U eksperimentalnim kompozitima korišćeni su sledeći HAP punioci: nano-HAP (*Nano*) – dobijen precipitacionom metodom, i čestice mikro dimenzija: sfere (*Sf*), silicijumom dopirane sfere (*Sf_{Si}*), trake (*Tr*) i silicijumom dopirane trake (*Tr_{Si}*) – sve dobijene hidrotermalnom metodom. Svi pomenuti oblici HAP-a su sintetisani i karakterizovani na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

U komercijalnim adhezivima korišćene su suspenzije HAP nano-iglica (*HAP-iglice*) i HAP nano-traka (*HAP-trake*) sa udelom HAP-a u suspenziji od 16 mas%.

Za HAP kompakte, odnosno inserte korišćeni su sferni aglomerati HAP-a dobijeni hidrotermalnom metodom, koji su potom izostatski presovani i sinterovani u blokove.

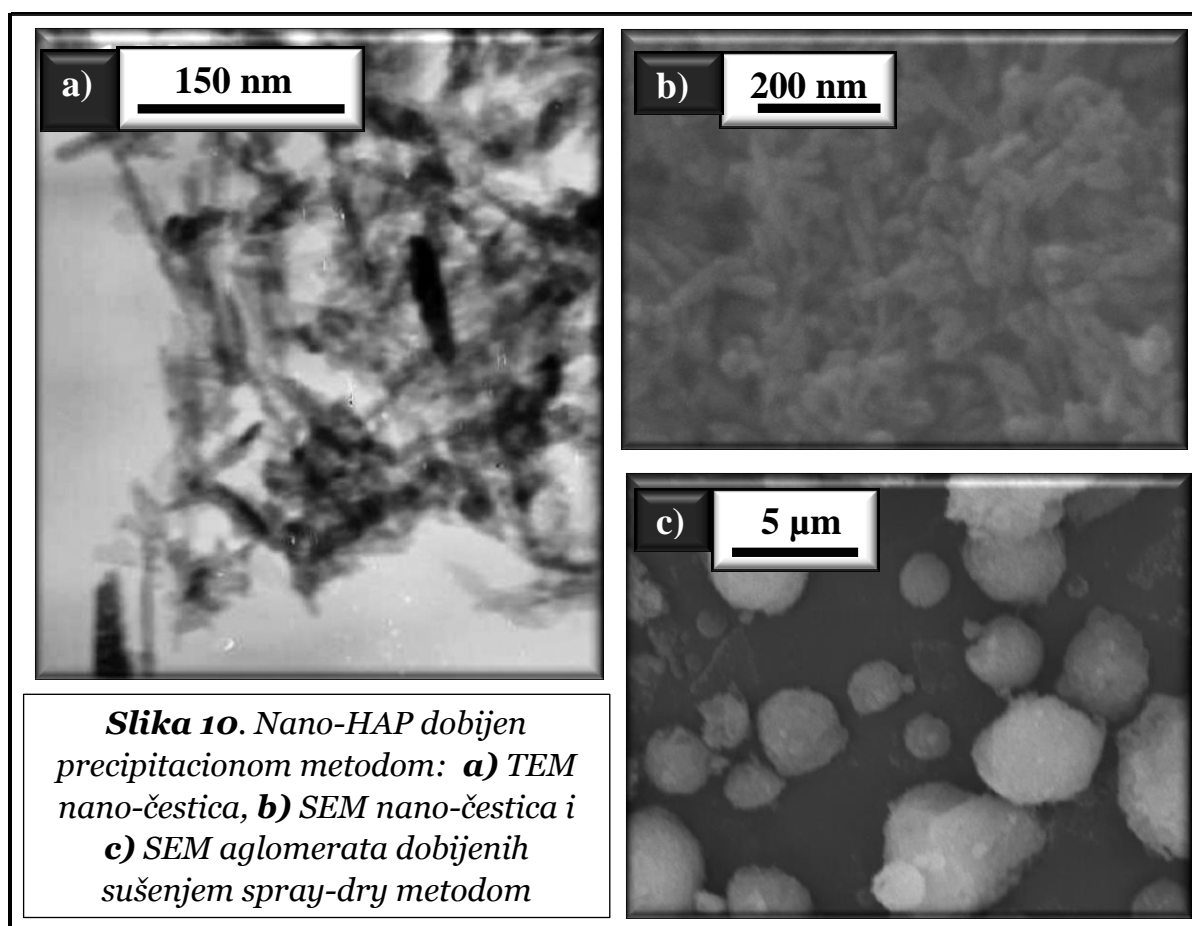
2.3.1. Sinteza nano-HAP-a precipitacionom metodom

Nano-HAP sa stehiometrijskim odnosom Ca/P (1,67 molarno) sintetisan je hemijskom precipitacionom metodom (Veljovic D, 2009, Veljovic D, 2010). Kalcijum-oksidi, dobijeni žarenjem kalcijum-karbonata analitičke čistoće tokom 4-5 h na 1000 °C u atmosferi vazduha, u malim porcijama je dodavan u destilovanu vodu tokom 10 min, uz konstantno mešanje. Na taj način dobijena suspenzija kalcijum-hidroksida je kroz sito prebačena u reakcioni balon (u cilju odvajanja nereagovalih zrna CaO). U suspenziju kalcijum-hidroksida je zatim dodavana razblažena fosforna kiselina (1:1) kap po kap, u stehiometrijskom odnosu u skladu sa jednačinom:



pH vrednost suspenzije je na početku sinteze iznosila 11, a dodavanje fosforne kiseline je prekinuto pri pH=7,5. Dobijena suspenzija je zatim zagrevana tokom 30 min na 94±1 °C uz konstantno mešanje. Nakon zagrevanja suspenzija je ostavljena da odstoji u matičnom rastvoru, sve dok se nije izdvojio gornji bistri sloj, koji je zatim dekantovan. Suspenzija je zatim, u cilju dobijanja granulisanog praha, „spray-dry” metodom osušena na 105 °C.

Rendgenska difrakciona analiza je potvrdila prisustvo HAP-a kao jedine kristalne faze. Veličina čestica je iznosila 50-100 nm. Prosečna veličina kristalita iznosila je 35 nm (najveći broj čestica je građen od dva, drugačije orijentisana kristalita). Čestice su grupisane u obliku mekih aglomerata čija je veličina u opsegu 0,2-5 μm (Slika 10).

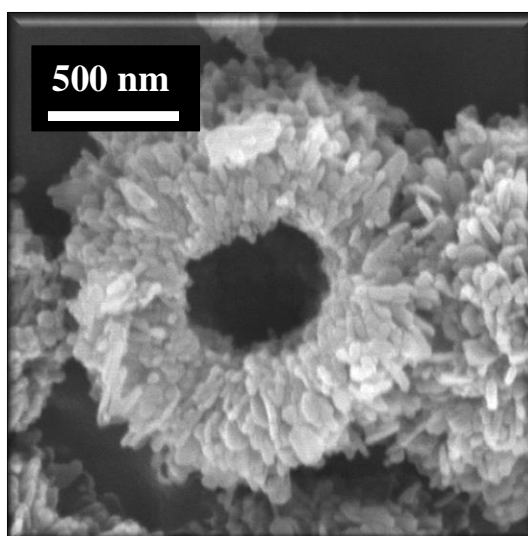


2.3.2. Sinteza HAP sfera hidrotermalnom metodom

HAP sfere dobijene su hidrotermalnim postupkom opisanim ranije (Jokic et al., 2011, Jokić, 2011). Kao polazna jedinjenja za sintezu korišćeni su: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,0642 mol), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,0385 mol), $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,0199 mol), i urea (0,2 mol), koji su najpre rastvoreni u 1500 ml destilovane vode u staklenom sudu. Između suda sa rastvorom i čeličnog zida autoklava nasuto je 1500 ml destilovane vode, u cilju obezbeđivanja uniformnog prenosa toplote. Reakcioni sud sa rastvorom je postavljen u autoklav koji je zatim postepeno zagrevan do 160 $^\circ\text{C}$ tokom 1 h, a potom

držan na toj temperaturi tokom 2 h. Nakon toga autoklav je spontano ohlađen tokom 10 h do sobne temperature. Istaloženi apatit je sakupljen filtracijom na vakumu i ispran destilovanom vodom.

Prečnik dobijenih sfera bio je u opsegu 1-3 μm . Same sfere predstavljaju sferne aglomerate sa veličinom primarnih čestica 100-200 nm, koje su radialno raspoređene oko centra sfere, dok se u samom centru sfere u najvećem broju slučajeva nalazi centralna šupljina (Slika 11).



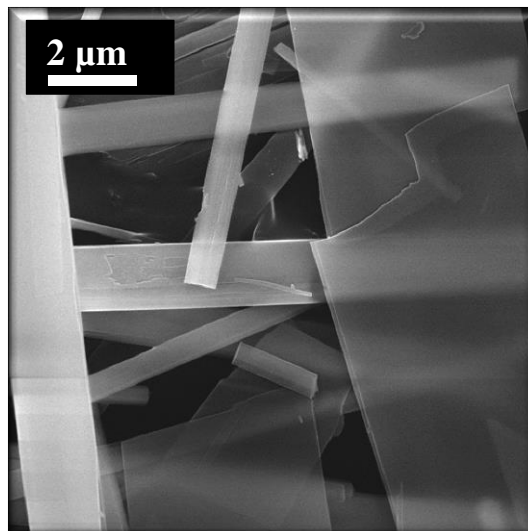
Slika 11. Hidrotermalno sintetisane HAP sfere, sa primarnim česticama organizovanim perpendikularno oko centralne šupljine

2.3.3. Sinteza HAP traka hidrotermalnom metodom

HAP trake su dobijene modifikovanom hidrotermalnom metodom (Jokic B, 2011, Jokić, 2011) na povišenim temperaturama, putem direktne reakcije kalcijum nitrat tetrahidrata ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) i natrijum dihidrogen fosfat dihidrata ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), uz upotrebu uree ($(\text{NH}_2)_2\text{CO}$) kao homogenizirajućeg precipitacionog agensa. Sinteza se odvijala po mešanju stehiometrijskog odnosa $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (15,17 g) i $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (6 g), sa molarnim odnosom Ca/P od 1,67, sa dodatkom 3 g uree u 1500 ml destilovane vode, u staklenom sudu. U cilju obezbeđivanja ujednačenog prenosa toplote, voda je postavljena u prostor između staklenog suda i čeličnog zida autoklava. Temperatura tokom odvijanja reakcije je kontrolisana termoparovima.

Inicijalna pH je bila 4,5, dok je konačna pH iznosila 6,9. Autoklav u kome se odvijala sinteza je zagrejan do 160°C tokom 1 h, zadržan na ovoj temperaturi tokom 2 h, nakon čega je autoklav ostavljen da se spontano ohladi tokom 10 h, do sobne temperature. Formirani HAP precipitat je filtriran pod vakumom, pa ispran destilovanom vodom.

Dobijene HAP trake (Slika 12) imale su dužinu 50-150 μm , širinu 2-10 μm i debljinu 300 nm. Presek čestica je heksagonalan. Trake (heksagonalne trake) su po sintezi bile orjentisane tako da “izviru” iz centralne čestice oblika šolje. Iz ovakve heksagonalne forme u centru pahuljaste formacije razvijaju se trake kao posledica brzog rasta HAP-a duž *c*-ose. HAP trake predstavljaju pojedinačne kristalite što je utvrđeno elektronskom difrakcijom na TEM-u i potvrđeno rendgenskom difrakcionom analizom.

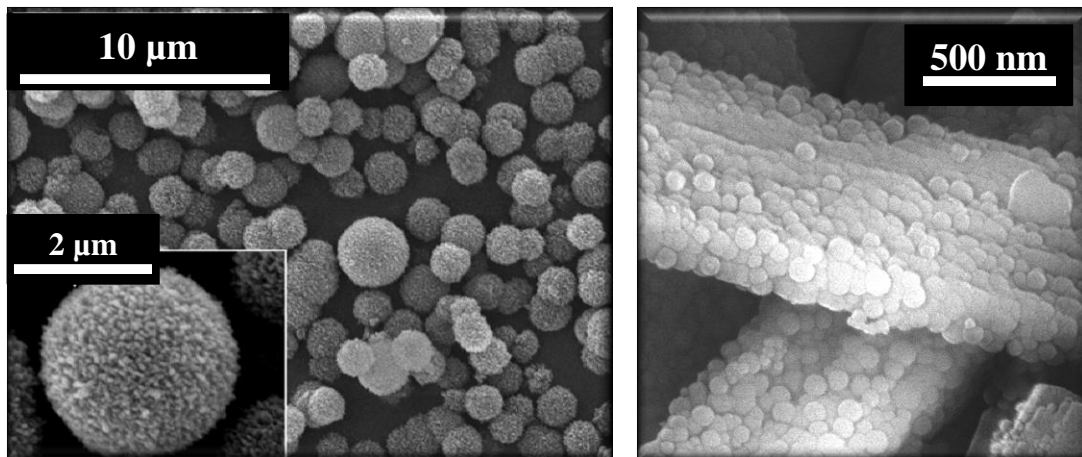


Slika 12. HAP trake dobijene modifikovanom hidrotermalnom metodom

2.3.4. Dobijanje silicijumom dopiranih HAP sfera i traka

Silicijumom-supstituisani apatiti dobijeni su uz polazni odnos Ca/P = 1,50 kako bi se pospešila fazna transformacija hidroksiapatita u α -TCP fazu na nižim temperaturama uz dodatak tetraetil-ortosilikata kao izvora jona silicijuma (Jokic et al., 2011, Jokić, 2011). Tetraetil-ortosilikat je prvo rastvoren u 40 ml apsolutnog alkohola, pa potom dodat u osnovni rastvor. Ostatak sinteze sfera i traka se nije razlikovao u odnosu na sintezu nedopiranog HAP-a istog oblika.

Masena zastupljenost silicijuma iznosila je 2,1% u sferama i 2,7% u trakama. SiO_4^{4-} joni su inkorporirani unutar kristalne rešetke umesto PO_4^{3-} jona. Sfere su aglomerati primarnih igličastih nano-čestica veličine 200 do 500 nm, zavisno od prečnika sfere. SiO_2 čestice su formirane na vrhovima primarnih igličastih kristalita koji izgrađuju sferu. Silicijumom dopirane HAP sfere i trake prikazane su na Slici 13.



Slika 13. Silicijumom dopirane HAP sfere i trake

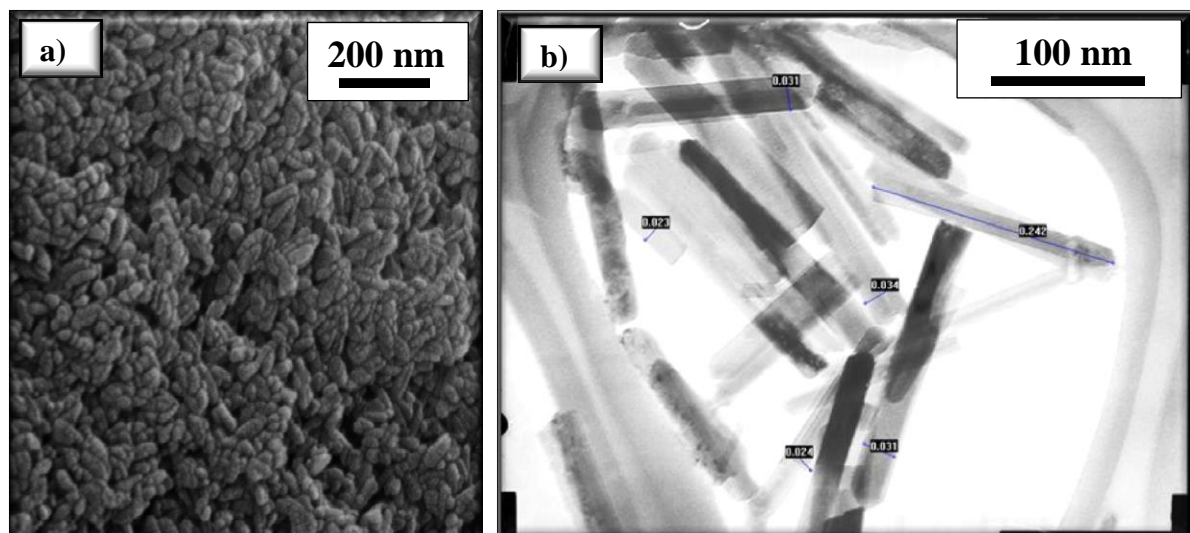
Nanometarske čestice SiO_2 se formiraju hidrolizom monomera tetraetil-ortosilikata, kao prekursora, u prisustvu baze kao katalizatora, čija koncentracija se povećava sa razgradnjom uree. Pošto je tetraetil-ortosilikat nerastvorljiv u vodi, kao sredstvo za homogenizaciju u polaznom rastvoru korišćen je etanol. Veličina sfernih nano-čestica SiO_2 , formiranih na površini sfernih i trakastih čestica HAP-a iznosila je oko 50 nm.

2.3.5. Dobijanje suspenzija nano-HAP iglica i traka

Za mešanje sa komercijalnim adhezivima korišćene su suspenzije HAP-a, sa njegovim udelom od 16 mas%. Korišćena su dva oblika HAP-a, igličasti nano-HAP, kakav je u obliku praha dodavan u eksperimentalne kompozite i nano-HAP u obliku traka. Dobijanje suspenzije nano-iglica podrazumevalo je istu precipitacionu sintezu kao u poglavlju 2.3.1. (Veljovic D, 2009, Veljović, 2010), izuzev dekantovanja i sušenja suspenzije nakon sinteze. Dakle HAP je zadržan u originalnom rastvoru.

HAP nano-trake dobijene su hidrotermalnom metodom sinteze. Kao polazna jedinjenja korišćeni su $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (1,517 g) i $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,6 g), sa

molarnim odnosom Ca/P od 1,67 (stehiometrijski), $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1,48g) uz dodatak uree. Sve navedene komponente rastvorene su u 400 ml destilovane vode. Inicijalna pH iznosila je 3,75, dok je podešena pH iznosila 6,3 što je postignuto postepenim dodavanjem dvomolarne NaOH (oko 9,4 ml). Rastvor je nakon mešanja komponenti prenesen u autoklav i zagrevan do temperature od 160°C na kojoj je zadržan 1 h, pa ostavljen da se spontano ohladi. pH nakon sinteze je iznosila 8,3. Nakon taloženja sintetisanih HAP nano-traka sa vrha suda je odsuta izdvojena tečnost (voda sa nusproduktima sinteze) do postizanja HAP udela od 16 mas%. Smeša je pre korišćenja mešana ultrazvukom. Za potrebe karakterizacije čestica, rastvor je nakon sinteze profiltriran i ispran vodom. HAP nano-trake prikazane su na Slici 14. Dužina nano-traka iznosila je oko 200-250 nm, a širina oko 25 nm.

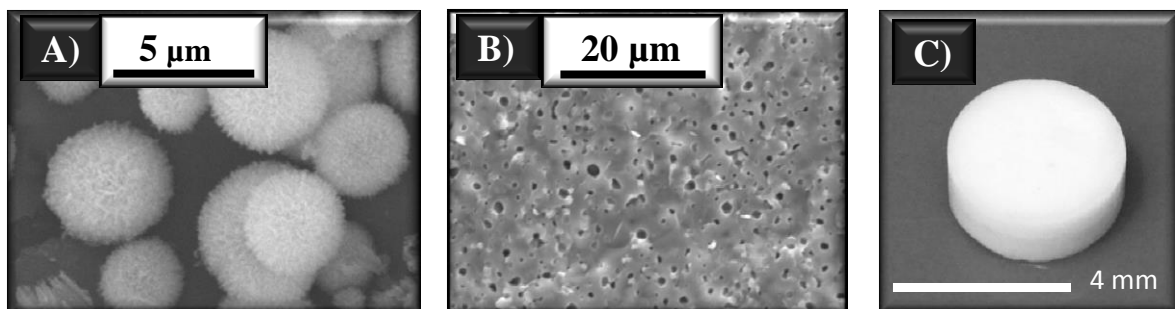


Slika 14. HAP nano-trake: **a)** SEM i **b)** TEM mikrografija

2.3.6. Sinteza i procesiranje praha HAP-a do dobijanja inserata

Početni HAP prah se sastojao od primarnih štapićastih nano-čestica dimenzija ispod 100 nm, aglomerisanih u sferne aglomerate (Slika 15). Prah je dobijen modifikovanom hidrotermalnom sintezom opisanom ranije (Janackovic et al., 2001, Veljovic et al., 2010), počevši od rastvora $\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (15,96 g), $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (14,8 g), $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (12 g) i uree (12 g) (Veljovic et al., 2011). Rastvor je zagrevan u autoklavu na 160°C tokom 3 h, potom je filtriran, ispran toplom destilovanom vodom i osušen na 105°C tokom 2 h. Prah HAP-a je dalje izostatski presovan u kalupu od

nerđajućeg čelika pri pritisku od 400 MPa tokom 1 min, nakon čega su dobijeni diskoidni kompakti prečnika 4 mm i debljine 1,6 mm. Gustina polaznih kompakata određena je primenom Arhimedovog zakona i iznosila je $1,83 \pm 0,01 \text{ g/cm}^3$, odnosno 58% od teorijske gustine. Polazni kompakti ("green body") su sinterovani na $1200 \text{ }^\circ\text{C}$ tokom 2 sata, pri brzini zagrevanja od $20 \text{ }^\circ\text{C/min}$. Nakon završetka sinterovanja uzorci su izvađeni iz peći i ohlađeni na sobnoj temperaturi. Dominantnu fazu je činio upravo HAP, uz prisustvo manje količine α - i β -TCP kao sekundarnih kristalnih faza (Veljovic et al., 2011). Insetni materijal se karakterisao gustinom $2,64 \pm 0,02 \text{ g/cm}^3$ (određenom po Arhimedovoj metodi), otpornošću na širenje prsline od $1,30 \pm 0,015 \text{ MPa}\sqrt{m}$ i tvrdoćom po Vickersu od $3,05 \pm 0,05 \text{ GPa}$. Dobijeni HAP kompakti kontrolisane poroznosti imali su pore prosečnog prečnika $0,74 \text{ }\mu\text{m}$, posmatrano na preseku polomljenog kompaka. Uočavale su se dominantno zastupljene sferne unutaraglomeratne pore, kao i manje zastupljene međuaglomeratne pore nedefinisanog oblika. Poroznost kompakta iznosila je $15,3 \pm 0,3\%$. Polazne čestice, presek kompakta i njegov krajnji izgled prikazani su na Slici 15.



Slika 15. a) Hidrotermalno sintetisane HAP mikrosfere korišćene za kompaktiranje; **b)** Presek sinterovanog kompakta sa uočljivom veličinom, oblikom i zastupljenošću pora ; **c)** Kompakt tj. insert pre postavljanja u dentinski disk

2.4. Kompoziti sa hidroksiapatitnim puniocima

2.4.1. Pilot studija - sastav eksperimentalnih kompozita

Smole za eksperimentalne kompozitne mešavine odabrane su na osnovu pregleda literature, kao i na osnovu pilot studija.

Tvrdoća po Vikersu testirana je kod više organskih smeša sa dodatkom različitog udela staklenih punilaca veličine 0,7 μm (silanizirano staklo) i 7,5 μm (barijum boro-silikatno staklo). Srednje vrednosti tvrdoće po Vikersu testiranih grupa prikazane su u Tabeli 4.

Tabela 4. Srednje vrednosti i standardne devijacije tvrdoće po Vikersu testiranih smeša

Smole	Maseni odnos smola	Udeo smola	Udeo punioca	Maseni odnos punilaca veličine 0,7 μm i 7,5 μm	HV
UDMA/TEGDMA	2:1	25 mas%	75 mas%	1:1	51,4
BisGMA/TEGDMA	1:1	25 mas%	75 mas%	1:1	54,5
BisGMA/TEGDMA	2:1	21 mas%	79 mas%	1:1	51,4
UDMA/TEGDMA	2:1	25 mas%	75 mas%	1:3	47,3
BisGMA/TEGDMA	1:1	22 mas%	78 mas%	1:1	56,2
BisGMA/TEGDMA	2:1	21 mas%	79 mas%	1:1	51,4
UDMA/TEGDMA	2:1	25 mas%	75 mas%	Samo punilac veličine 7,5 μm	55,4
UDMA/TEGDMA	2:1	25 mas%	75 mas%	Samo punilac veličine 0,7 μm	34,3
Srednje vrednosti Tvrdoće po Vikersu kompozita sa 75 mas% punilaca i HAP-om					
	Kontrola	<i>Sf</i>	<i>Tr</i>	<i>Tr_{Si}</i>	<i>Nano</i>
HV	45,3	46,5	42,9	37,0	43,1

Mešanjem poslednje dve smeše primećeno je da udeo manjih punilaca može biti veći u odnosu na udeo većih punilaca, a da konzistencija kompozita ostane zadovoljavajuća. Zbog navedenog u definitivnim testiranjima korišćeni su isključivo manji punioci (0,7 μm). Takođe je primećeno da se u kombinacije sa BisGMA-om može dodati veći udeo punilaca iako je konzistencija same BISGMA-e veća u odnosu na konzistenciju UDMA-e. Kao definitivna je odabrana organska mešavina na bazi BISGMA/TEGDMA sa masenim odnosom 1:1.

Sama konzistencija kompozita, odnosno udeo ukupnih punilaca koji se dodaje u kompozite određen je probama umešavanja, do postizanja optimalne konzistencije. Pošto su pojedini HAP punioci (sfere i nano-HAP) mogli biti dodati u manjem udelu u odnosu na staklene punioce i druge oblike HAP-a (trake), kao konačan sastav odabrana je takva kombinacija da u svim grupama bude isti mas% svih komponenti.

Udeo HAP-a od ukupnih punilaca određen je na osnovu testiranja savojne čvrstoće na po 5 uzoraka sa 5, 10 i 15 mas% nedopiranih traka (*Tr*) i dobijene su prosečne vrednosti maksimalne dostignute sile od: 81,5 N, 88,4 N i 76,8 N, redom. Na osnovu dobijenih rezultata odlučeno je da udeo HAP punilaca iznosi 10 mas% od ukupnog udela punilaca, dakle u kompletnoj kompozitnoj mešavini HAP je predstavljao 7,3 mas%.

2.4.2. Sastav i priprema eksperimentalnih kompozita

Organsku komponentu kompozita za sve eksperimentalne grupe činilo je 49,5 mas% BisGMA, 49,5 mas% TEGDMA, 0,2 mas% fotoinicijatora (Kamforhinon) i 0,8 mas% akceleratora (DMAEMA). Odmerene količine BisGMA i TEGDMA u svetlosno nepropustnoj epruveti (obloženoj aluminijumskom folijom) mešane su u trajanju od 1 min na vortex mikseru. U istu epruvetu dodate su potrebne mase CQ i DMAEMA. Sadržaj je homogenizovan pomoću rotatora sa 20 obr/min u trajanju od 24 sata. Korišćene komponente prikazane su u Tabeli 5.

Tabela 5. Sastav organske komponente kompozita

Komponenta*	Skraćenica	Maseni procenat (mas%)
Bisfenol A glicerolate dimetakrilat	BisGMA	49,5
Trieten-glikol dimetakrilat	TEGDMA	49,5
Kamforhinon	CQ	0,2
2-(Dimetil)etil metakrilat	DMAEMA	0,8

* Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Munich, Nemačka

U homogenizovanu organsku mešavinu postepeno je dodavana odmerena količina bilo samo konvencionalnih staklenih punilaca za kontrolnu grupu ili kombinacije ovih punilaca sa hidroksiapatitom u odnosu 9:1 maseno. Umešavanje praha punilaca rađeno je iz segmenata u centrifugi pri 10000 obr/min u trajanju od 10 min za svaki segment. Nakon mešanja poslednje količine punilaca sadržaj je dodatno homogenizovan ručnim mešanjem. Sastav eksperimentalnih kompozita prikazan je u Tabeli 6.

Tabela 6. Sastav testiranih eksperimentalnih kompozita

Grupa	Skraćenica	Organska komponenta mas%	Neorganska komponenta (punioci)			
			Silanizirano Ba-staklo*		Hidroksiapatit	
			Dimenzije (µm)	Mas%	Dimenzije	Mas%
Kontrola	/	27	0,7	73	/	/
Nano-HAP	<i>Nano</i>	27	0,7	65,7	50-100nm	7,3
Sfere	<i>Sf</i>	27	0,7	65,7	1-3µm	7,3
Si-dopirane sfere	<i>Sf_{Si}</i>	27	0,7	65,7		7,3
Trake	<i>Tr</i>	27	0,7	65,7	300nm x	7,3
Si-dopirani trake	<i>Tr_{Si}</i>	27	0,7	65,7	50-150µm x 2-10 µm	7,3

* Esstech Inc. Essington, PA, SAD

2.4.3. Priprema uzoraka eksperimentalnih kompozita

Priprema uzoraka za tvrdoću, kompresivnu čvrstoću i stepen konverzije. Svakim od umešanih kompozita popunjeni su plastični kalupi diskoidnog oblika prečnika 5 mm i debljine 2 mm (5 uzoraka za tvrdoću i stepen konverzije, a 10 za kompresivnu čvrstoću). Kalupi su bili postavljeni na celuloidnu foliju pa na staklenu pločicu. Po aplikaciji materijala sa gornje strane kalupa, preko druge celuloidne folije, pritisnuto je drugom staklenom pločicom kako bi se eliminisao višak materijala i dobila glatka gornja površina. Gornja staklena pločica je uklonjena i materijal je polimerizovan sa rastojanja od 1 mm (obebeđeno graničnikom), u trajanju od 40 s, LED lampom intenziteta 800 mW/cm^2 . Uzorci za merenje tvrdoće i kompresivne čvrstoće potopljeni su u destilovanu vodu i odloženi u inkubator na 37°C . Uzorci za stepen konverzije čuvani su na 37°C na suvom do merenja. Nakon 24 h urađena su merenja. Isti uzorci za tvrdoću i novih 5 za kompresivnu čvrstoću (jer je prethodnih 5 zbog prirode testa uništeno), potopljeni su u 10 ml Henkog rastvora, odloženi u inkubator na 37°C tokom 4 nedelje, sa zamenom rastvora nakon svakih 7 dana.

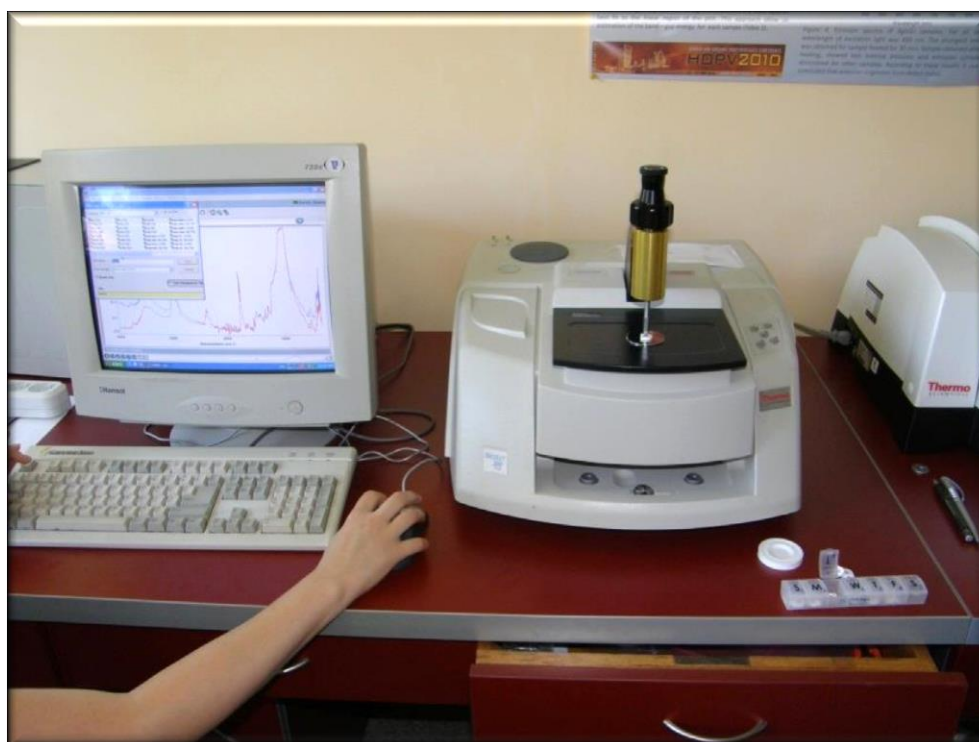
Priprema uzoraka za savojnu čvrstoću. Umešani kompoziti aplikovani su u razdvojev metalni kalup unutrašnjih dimenzija 2 mm x 2 mm x 25 mm, napravljen po preporukama ISO standarda 4049:2000. Kalup je postavljen na celuloidnu tračicu, napunjen kompozitom vodeći računa da potpuno popuni sve ćoškove i da ne ostane zarobljenog vazduha, prekriven drugom celuloidnom tračicom, pritisnut staklenom pločicom debljine 1 mm. Polimerizacija je izvršena prosvetljavanjem 4 x 40 s LED lampom intenziteta 800 mW/cm^2 i to prvo kroz staklenu pločicu na sredini uzorka, potom za širinu lampe ka jednom pa ka drugom kraju, čime je obuhvaćena celokupna dužina uzorka, a nakon toga je prosvetljeno još 40 s pomerajući svetlosni izvor od jednog do drugog kraja uzorka, bez staklene pločice. Pripremljeno je po 18 uzoraka od svake grupe, 9 za merenje inicijalno (nakon 24h u destilovanoj vodi na 37°C) i 9 za merenje nakon 4 nedelje potopljenosti u 10 ml Henkog rastvora, u inkubator na 37°C , pri čemu je zamena svežim rastvorom vršena nakon svakih 7 dana.

2.4.4. Ispitivanje uzoraka eksperimentalnih kompozita

Stepen konverzije (DC od eng. „degree of conversion“) određen je pomoću infracrvenog spektrofotometra (Slika 16), pravljenjem 64 skena u spektralnom opsegu 4500-400 cm^{-1} . Nepolimerizovan materijal je korišćen kao referentni za određivanje stepena konverzije. DC je izračunat na osnovu formule:

$$DC = \left(1 - \frac{R_{pol}}{R_{nepol}}\right) \times 100$$

gde je DC stepen konverzije, R odnos intenziteta talasa koji odgovaraju dvostrukim ugljeničnim vezama (1637 cm^{-1}) i aromatičnim vezama (1610 cm^{-1}) kod polimerizovanog (R_{pol}) i nepolimerizovanog (R_{nepol}) materijala.



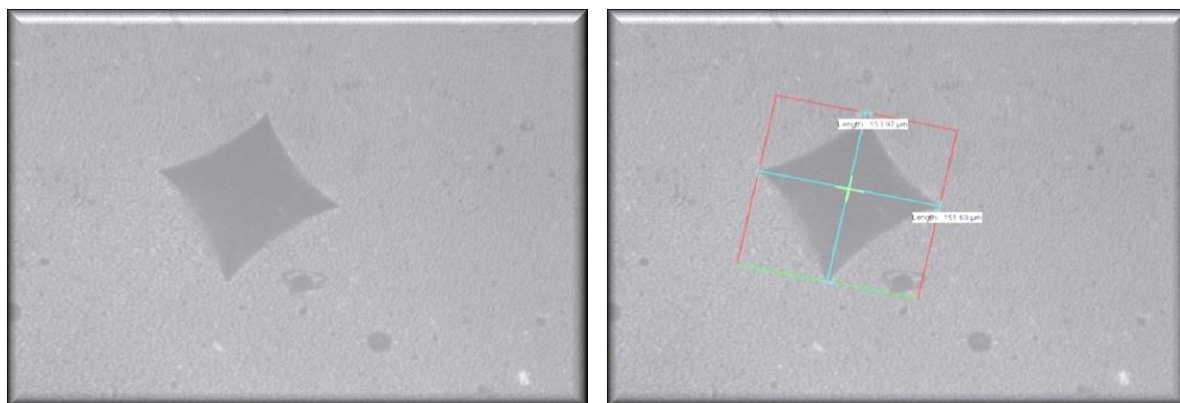
Slika 16. Infracrveni spektrofotometar za merenje stepena konverzije

Tvrdoća po Vickersu (HV) ispitivana je pomoću utiskivača oblika četvorostrane piramide u uređaju za merenje tvrdoće po Vickersu (Slika 17). Opterećenje utiskivača (500 g) i trajanje opterećenja (5 s) definisano je na osnovu izgleda utisnuća pod mikroskopom. Na svakom uzorku je izvršeno po tri merenja sa neprosvetljavane strane.

Isti uzorci nakon merenja čuvani su u Henkovom rastvoru tokom 4 nedelje na 37°C. Nakon toga tvrdoća po Vickersu merena je na način kako je prethodno opisano. Na svakom uzorku urađena su još po tri merenja, a beležena je njihova srednja vrednost. Primer otiska piramide utiskivača sa softverskim dodatkom dijagonala prikazan je na Slici 18.



Slika 17. Uređaj za merenje tvrdoće po Vickersu (HV). Malom slikom je prikazano mesto postavljanja uzorka

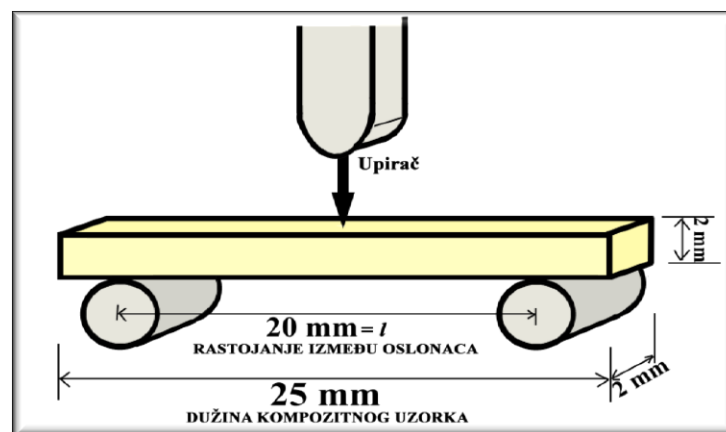


Slika 18. Otisak prilikom merenja tvrdoće po Vickersu, bez i sa dijagonalama za izračunavanje

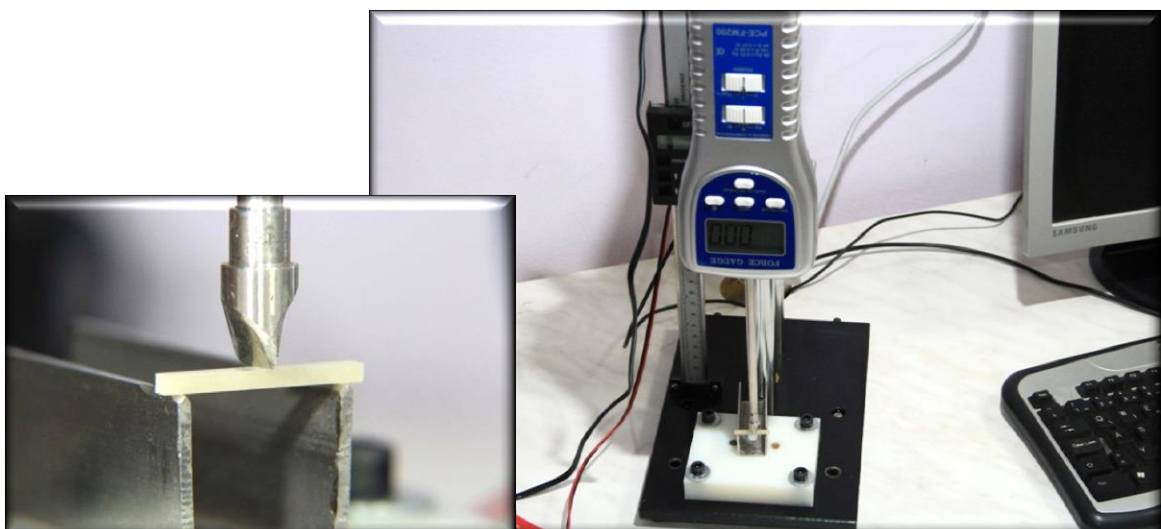
Savojna čvrstoća (F_s) određena je savijanjem u tri tačke, po preporukama ISO 4049:2000 standarda, sa razmakom između oslonaca 20 mm u univerzalnom meraču sile pri brzini upirača od 1 mm/min. Sila je aplikovana do pucanja uzoraka, a polomljeni fragmenti su analizirani na SEM-u. Savojna čvrstoća (F_s) izračunata je na osnovu maksimalne dostignute sile - F , visine - h i širine - b uzorka i na osnovu razmaka između oslonaca - l (20 mm), odnosno prema formuli:

$$F_s = \frac{3Fl}{2bh^2}$$

Za testiranje nakon 4 nedelje korišćena je posebna serija uzoraka. Eksperimentalna postavka je šematski prikazana na Slici 19, a u realnim uslovima na Slici 20.



Slika 19. Šematski prikaz eksperimentalne postavke za testiranje savojne čvrstoće, sa dimenzijama uzorka i rastojanja između oslonaca

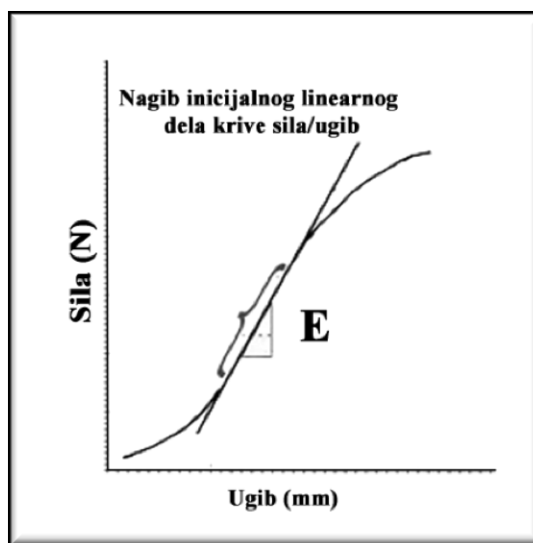


Slika 20. Realan prikaz postavke za testiranje savojne čvrstoće

Savojni moduo elastičnosti je određen na osnovu grafika sila-ugib (Slika 21), beleženog tokom primene sile na svaki uzorak pri savijanju u tri tačke, pomoću formule:

$$Ef = \frac{Fl^3}{4bdh^3}$$

gde je Ef savojni moduo elastičnosti, F maksimalna dostignuta sila, l dužina uzorka između oslonaca, b širina uzorka, d ugib uzorka u toku testiranja i h visina uzorka.



Slika 21. Ilustracija grafikona za određivanje savojnog modula elastičnosti na osnovu nagiba inicijalnog linearnog dela krive

Kompresivna čvrstoća (Cs) određena je na osnovu maksimalne dostignute sile (F) registrovane pri pucanju diskoidnog uzorka opterećenog preko ravne gornje površine u univerzalnoj hidrauličkoj mašini za mehanička testiranja (Slika 22) pri brzini 0,5 mm/min i na osnovu površine poprečnog preseka uzorka (A) pomoću formule:

$$Cs = \frac{F}{A}$$



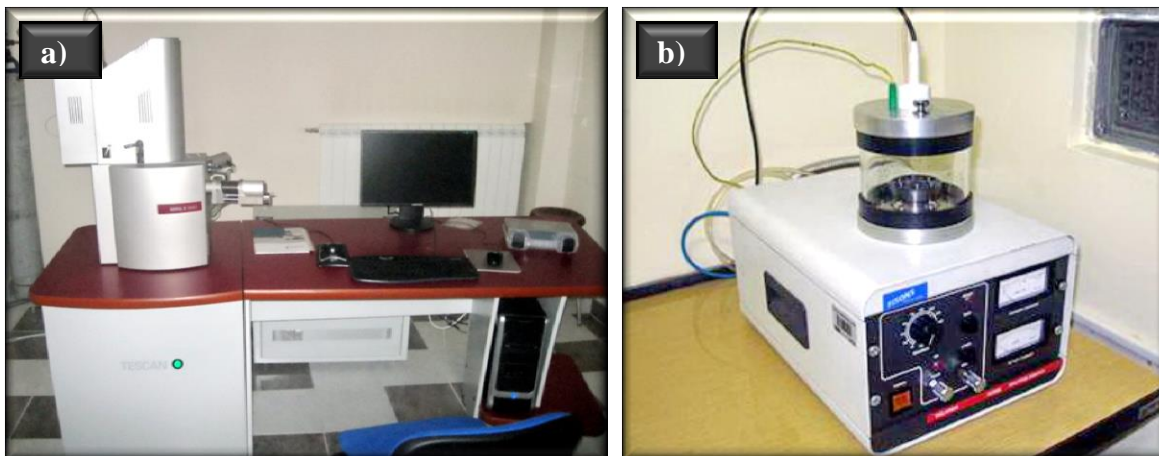
Slika 22. Instron uređaj za merenje kompresivne čvrstoće, sa prikazom mesta za postavljanje uzorka i polomljenih uzoraka nakon testiranja

Kompresivni moduo elastičnosti (E_c) određen je na osnovu grafika sila-sabijanje beleženog tokom primene sile na svaki uzorak, pomoću formule:

$$E_c = \frac{Fl}{\Delta l A}$$

gde je Δl promena debljine uzorka u toku testiranja (sabijanje).

Frakturne površine uzoraka nakon testa savijanja u tri tačke posmatrane su na SEM mikroskopu (Slika 23a) nakon neparavanja tankim filmom zlato-paladijuma (neparivač - Slika 23b).



Slika 23. a) SEM mikroskop, **b)** Au-Pd neparivač uzoraka

2.5. Adhezivi sa hidroksiapatitnim puniocima

2.5.1. Priprema adheziva sa hidroksiapatitom

U komercijalne adhezive Single Bond Universal i TeEconom Bond pipetom je dodavan odgovarajući udeo jedne od dve suspenzije HAP-a, nano-HAP iglica (*HAP-iglice*) ili nano-HAP traka (*HAP-trake*) tako da se dobiju adhezivi sa 0,5, 1 ili 1,5 mas% HAP-a. Osim ovih adheziva kao negativne kontrole umešani su i adhezivi sa odgovarajućim masenim udelom vode (2,6 mas % i 5,3 mas% vode, da odgovaraju adhezivima sa 0,5 i 1% HAP suspenzija). Nakon dodavanja suspenzija mešanje je izvršeno na vortex mikseru i adhezivi su korišćeni neposredno nakon pripreme. Pojediniosti o korišćenim komercijalnim adhezivima prikazane su u Tabeli 7, a udeo pojedinih komponenti u celokupnom adhezivu u Tabeli 8.

Tabela 7. Adhezivi korišćeni za dodavanje hidroksiapatitnih suspenzija

Adheziv (oznaka)	Protokol aplikacije	Proizvođač	Sastav
Single Bond Universal (SBU_TE i SBU_SE)	Totalno nagrizanje	3M ESPE Seefeld, Nemačka	BisGMA (15-25 mas%), HEMA (15-25 mas%), DMDMA (5-15 mas%), etanol (10-15 mas%), voda (10-15 mas%), stakleni punilac (5-15 mas%), 2-propenska kiselina (1-10 mas%), 2-metil-, reakcioni proizvodi sa 1,10-dekanediol i P ₂ O ₅ (1-10 mas%), kopolimer akrilne i itakonske kiseline (1-5 mas%), kamforhinon (<2 mas%), EDMAB (2 mas%), toluen (<0,02 mas%)
	Samonagrizanje		
Te-Econom Bond (TeE)	Totalno nagrizanje	Ivoclar Vivadent, Schaan, Lihtenštajn	BisGMA (25-50 mas%), etanol (10-<25 mas%), HEMA (10-<20 mas%), akrilat fosforne kiseline (10-<20 mas%), glicerol-1,3-dimetakrilat (3-<10 mas%), SiO ₂ , inicijatori, stabilizatori

Tabela 8. Sastav adheziva nakon dodatka HAP-suspenzija

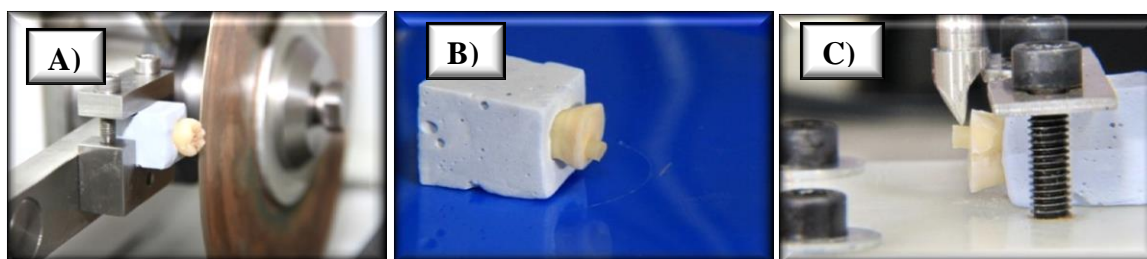
Grupa	Hidroksiapatit (mas%)	Suspenzija (mas%)	Adheziv (mas%)	Voda (mas%)
1	0,5	3,125	96,875	2,625
2	1	6,25	93,75	5,25
3	1,5	9,375	90,625	7,875

2.5.2. Priprema uzoraka za ispitivanje veze adheziva i dentina

Za ispitivanje jačine veze, humani, intaktni, molari, ekstrahovani zbog impaktiranosti uloženi su u gipsane kalupe, presečeni dijamantskom testerom normalno na uzdužnu osovinu zuba tako da se eksponira dentin u predelu ekvatora zuba. Sečene površine tretirane su abrazivnim papirom da se simulira stvaranje razmaznog sloja. Adheziv je aplikovan predviđenim protokolom (sa ili bez prethodnog kiselinskog nagrizanja u trajanju od 15 s) i nakon polimerizacije, kompozit je aplikovan preko adheziva u kalup prečnika 3 mm i dubine 2 mm, prema ISO/TS 11405 standardu. Šematski i realan prikaz dati su na Slikama 24 i 25.



Slika 24. Šematski prikaz korišćenja zuba za ispitivanje jačine veze. Ekstrahovani zubi su presečeni normalno na uzdužnu osovinu zuba u nivou ekvatora kruničnog dela zuba. Preko adheziva polimerizovan je kompozit u odgovarajućem kalupu oblika cilindra, visine 2 mm i prečnika 3 mm



Slika 25. Faze u toku pripreme uzoraka i merenje jačine veze adheziva i dentina. A) Sečenje krunice zuba B) Uzorak spreman za testiranje C) Makroskiciranje u univerzalnom meraču sile

2.5.3. Ispitivanje veze adheziva i dentina

Jačina veze (τ) određena je makrosmicanjem odnosno aplikacijom sile na kompozitnu nadgradnju na udaljenosti od 1 mm od adhezivnog spoja sa dentinom dok je sam zub fiksiran u univerzalnom meraču sile, u za to konstruisanom držaču (Slika 25C). Jačina veze određena je pomoću maksimalne dostignute sile u trenutku loma (F) i površine vezivanja tj. bondiranja (A), pomoću formule:

$$\tau = \frac{F}{A}$$

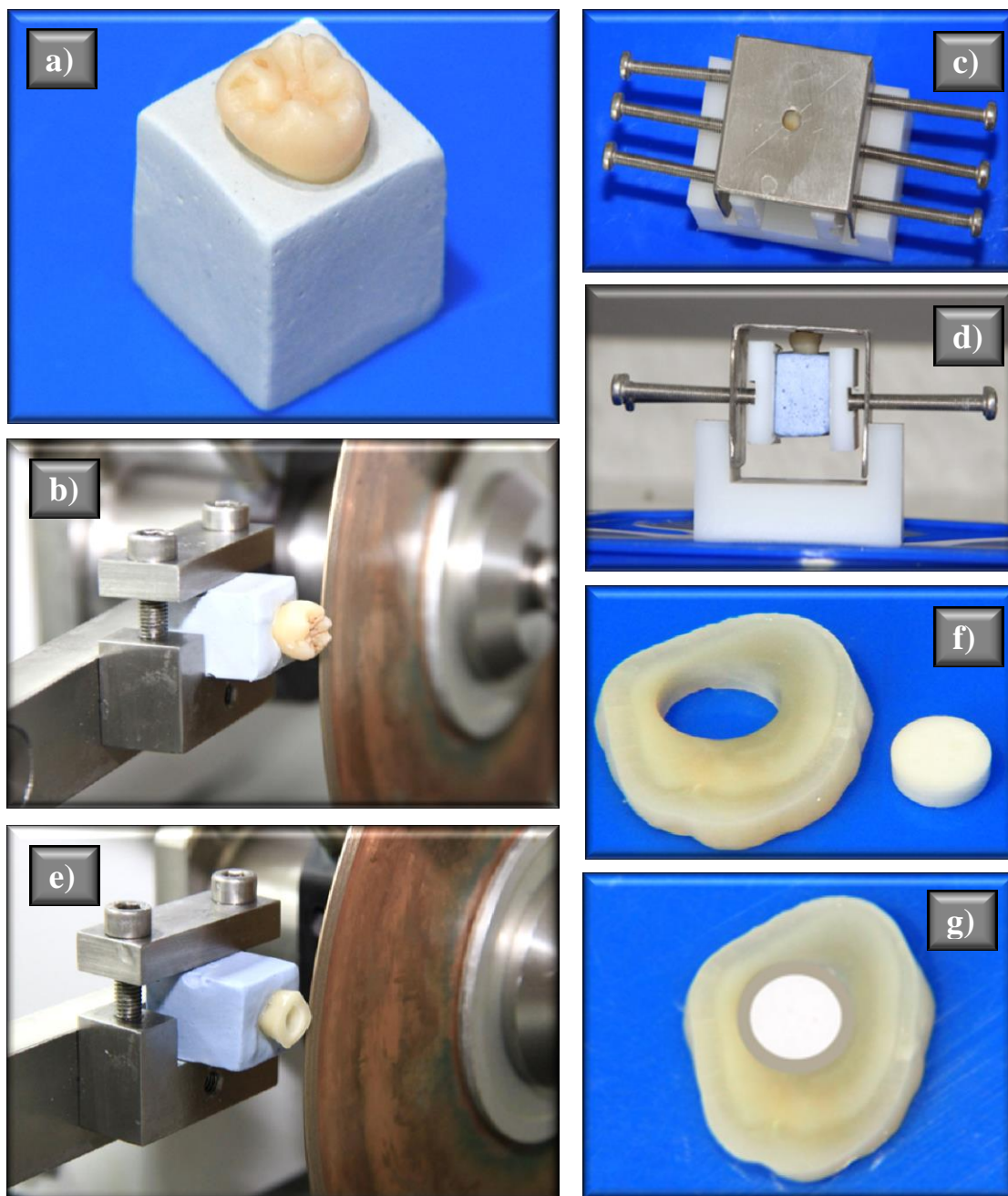
Tip loma određen je pomoću svetlosnog mikroskopa, mikroskopiranjem dentinske površine uzoraka nakon testa smicanja, pod uveličanjem x30. Tip loma je klasifikovan kao (1) adhezivni – fraktura u zoni adheziva bez ekstenzije frakturne linije u dentin ili kompozit, (2) kohezivni – fraktura isključivo u zoni kompozita ili dentina i (3) mešoviti – fraktura koja zahvata zonu adheziva i delimično kompozit i/ili dentin.

2.6. Hidroksiapatitni inserti

2.5.1. Priprema uzoraka za ispitivanje kontrakcije i pomeranja

Trideset intaktnih humanih molara nakon ekstrakcije prikupljeno je i čuvano u 0,01% rastvoru timola u frižideru na +4°C. U roku od mesec dana prikupljeni zubi uloženi su u gipsane kalupe do gledno-cementne granice, pa dijamantskom testerom presečeni normalno na uzdužnu osovinu zuba tako da se ukloni okluzalna trećina krunice i eksponira dentin (Slika 26 a i b). U svakom zubu je visokoturažnom bušilicom uz vodeno hlađenje (turbinom) sa dijamantskim borerom uz pomoć posebne vođice (Slika 26 c i d) preparisana cilindrična šupljina prečnika 5 mm. Zub je ponovo vraćen u testeru gde je isečen dentinski disk debljine 1,6 mm, koji je imao centralnu šupljinu (Slika 26 e). Zid preparisane šupljine u dentinskom disku dodatno je obrađen abrazivnim papirom finoće 600 uz irigaciju, kako bi se izglaçale eventualne neravnine, precizno doradile dimenzije preparacije (prečnik na 5 mm, a debljina na 1,6 mm) i

formirao razmazni sloj. Dentinski diskovi nasumično su podeljeni u 6 grupa, tri za restauraciju samo sa materijalom i tri za restauraciju insertom i materijalom. Korišćeni materijali prikazani su u Tabeli 9.



Slika 26. Faze u toku pripreme uzoraka za ispitivanje kontrakcije i pomeranja usled polimerizacije restaurativnog materijala za cementiranje dentalnog inserta. **a)** Zub je do svoje gledno-cementne granice uložen u gips, **b)** Zubu je odsečena okluzalna trećina krunice, **c)** i **d)** Pomoću posebne vođice u dentinu zuba je preparisan cilindrični kavitet prečnika 5 mm, **e)** Odsečen je dentinski disk debljine 1,6 mm, **f)** i **g)** dentinski disk pre i nakon cementiranja HAP inserta

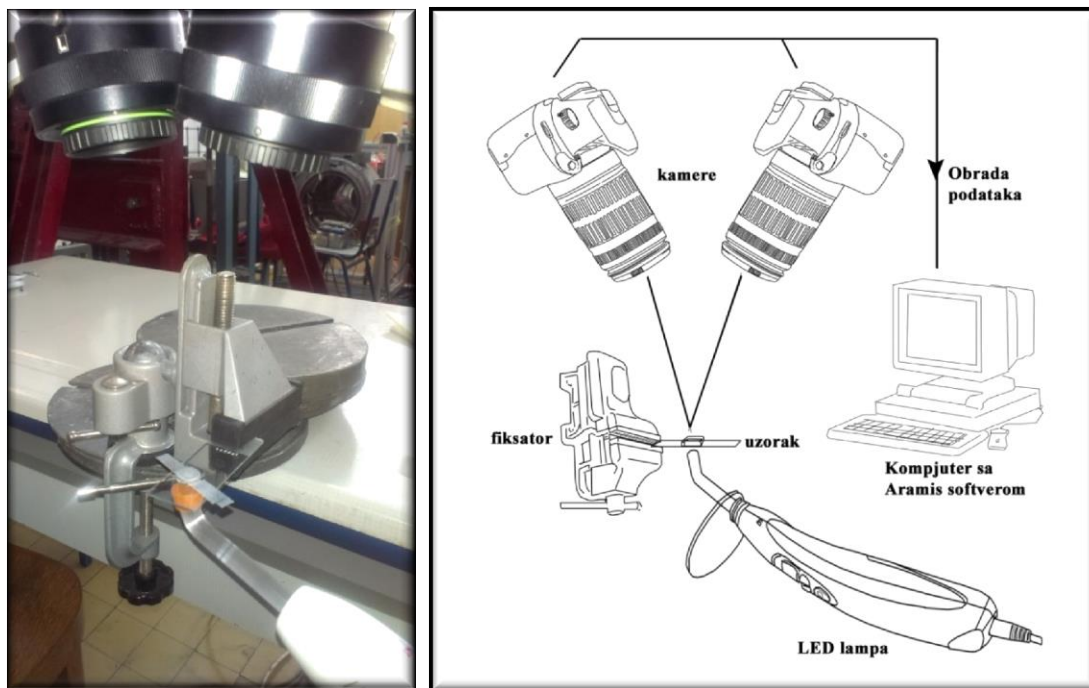
Tabela 9. Materijali korišćeni za testiranje polimerizacione kontrakcije i pomeranja

Materijal	Kod	Tip materijala	Sastav
Filtek Ultimate Flowable	Tečni	Tečni kompozit	Supstituisani dimetakrilat, BisGMA, TEGDMA, Funkcionalizovani dimetakrilni polimer, EDMAB, silanizirana keramika (50-60 mas%), silanizirano staklo (5-10 mas%), juterbium trifluorid (<5 mas%), TiO ₂ , benzotriazol, difeniljodonium heksafluorofosfat
Vitrebond	/	Smolom modifikovani glas jonomer cement, svetlosnopolimerizujući	Prah: fluoro alumino silikatno staklo: SiO ₂ , AlF ₃ , ZnO, SrO, kriolit, NH ₄ F, MgO, P ₂ O ₅ . Tečnost: modifikovana poliakrilna kiselina sa slobodnom metakrilnom grupom, HEMA, voda, fotoinicijator. P/T=4/1mas
Filtek Z 250	Z250	Univerzalni mikrohibridni kompozit	BisEMA6, UDMA, BisGMA, TEGDMA, silanizirana keramika (75-85 mas%), benzotriazol, EDMAB
Single Bond Universal	SBU	Adheziv za aplikaciju po 'total-etch' ili 'self-etch' protokolu	BisGMA, HEMA, DMDMA, etanol, voda, silika punioc, 2-propenska kiselina, 2-metil- reakcioni produkti sa 1,10-dekanediolom i fosforini oksid (P ₂ O ₅), kopolimer akrilne i itakonske kiseline, kamforhinon, EDMAB, toluen

*Svi materijali od kompanije 3M ESPE

Dentinski diskovi u grupama sa kompozitima (tečnim i konvencionalnim) tretirani su adhezivom (SBU) po 'self-etch' protokolu, dakle bez prethodnog kiselinskog nagrizanja, utapkavanjem adheziva u toku 15 s, pa prosvetljeni LED lampom (LEDition, Ivoclar Vivadent, Schaan, Lihtenštajn) intenziteta 800 mW/cm², 20 s. Dentinski diskovi predviđeni za restauraciju Vitrebondom nisu prethodno tretirani, što je u skladu sa preporukom proizvođača. Diskovi su postavljeni na celuloidnu tračicu, a zatim popunjeni samim materijalom ili kombinacijom materijala i inserta. Gornja površina je zaravnata, vodeći računa da materijal ne prelazi ivice kaviteta kao ni ivice inserta u ekperimentalnim grupama. Neposredno nakon popunjavanja gornja (nepokrivena) površina uzoraka koja će biti okrenuta ka kameri, isprskana je finim slojem crne i bele boje sa rastojanja od oko 30 cm kako bi se dobila površina prekrivena nepravilnim obojenim tačkicama - stohastična šara, pogodna za analizu metodom

korelacije slika. Uzorak je postavljen u predviđeno ležište sa definisanim rastojanjem od kamera, koje su prethodno kalibrisane prema uputstvu proizvođača. Obojena strana uzorka je bila okrenuta prema kamerama, dok je nebojena bila okrenuta ka LED lampi koja je bila fiksirana u svom držaču. Na ovaj način je obezbeđena ponovljivost merenja. Svetlosna polimerizacija u trajanju od 40 s izvršena je sa rastojanja od 1 mm. Fotografisanje kamerama urađeno je neposredno pre i posle svetlosne polimerizacije. Eksperimentalna postavka prikazana je na Slici 27, realan i šematski prikaz.

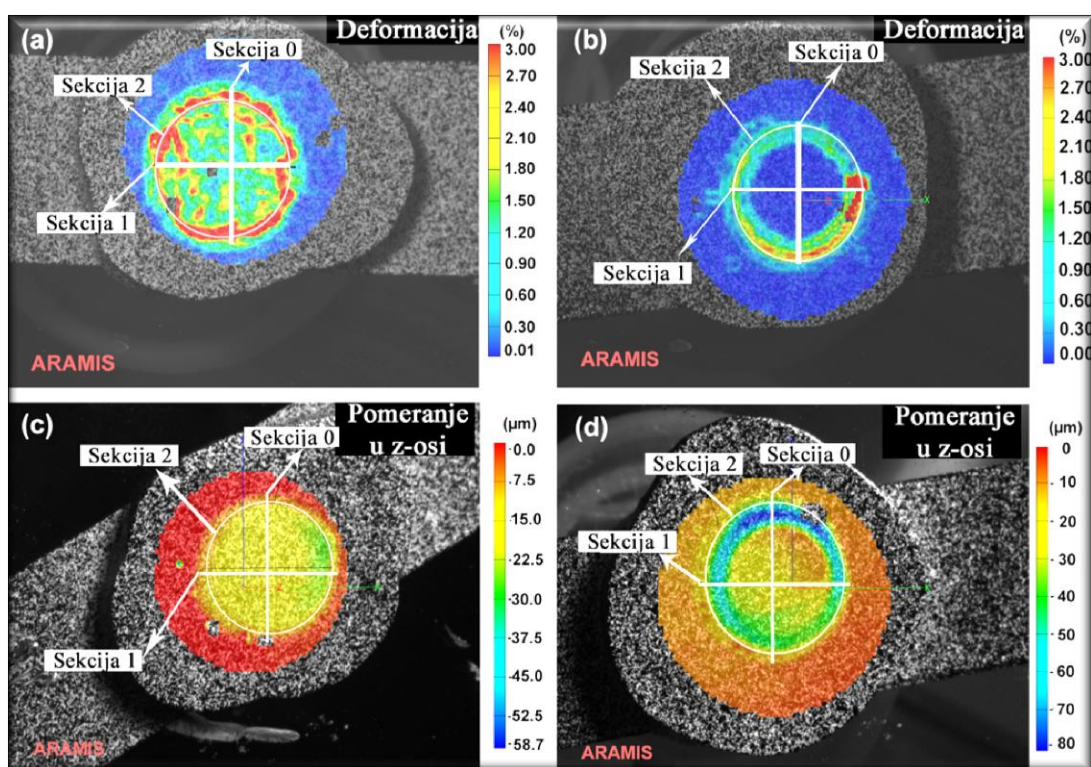


Slika 27. Eksperimentalna postavka za ispitivanje 3D deformacije (zapreminske kontrakcije) i pomeranja materijala

2.6.2. Ispitivanje kontrakcije i pomeranja

Slike pre i posle polimerizacije analizirane su u specijalizovanom Aramis 2M softveru pomoću koga su izračunate vrednosti za von Misesovu deformaciju i pomeranje u z-osi (pomeranje usmereno ka izvoru svetlosti). Von Mises-ova deformacija se dobija proračunom rezultata pomeranja pojedinačnih obojenih markera stohastične šare u tzv. deformaciono polje, a definiše se kao vrednost dobijena proračunom osnovnih deformacija u bilo kojoj zadatoj tački materijala u sva tri pravca. Za potrebe statističke analize von Mises-ova deformacija je projektovana u

funkciji rastojanja duž horizontalne i vertikalne linije koje prolaze kroz centar uzorka (Sekcije 0 i 1) i duž kružne periferne linije (Sekcija 2). Kružna periferna sekcija prolazi samo kroz materijal i kod kontrolnih i kod uzoraka sa HAP insertima. Vertikalni i horizontalni preseki kod uzoraka sa HAP insertima samo u svom početnom i završnom delu prolaze kroz materijal, a veći središnji deo (4 mm) obuhvata zonu inserta. Prikaz iz Aramis programa, sa sekcijama prikazane su na Slici 28. Statističko poređenje grupa je rađeno posebno za kružnu sekciju, a posebno za horizontalnu i vertikalnu sekciju zajedno (Sekcija 0+1).



Slika 28. Prikaz iz Aramis softvera. Uzorci za merenje deformacije i pomeranja sa prikazom korišćenih sekcija: Sekcija 0 - Vertikalna, Sekcija 1 - Horizontalna, Sekcija 2 - Kružna, periferna. Slike **a)** i **c)** su primer prikaza uzoraka bez HAP inserata, a slike **b)** i **d)** primer prikaza uzoraka sa HAP insertima

2.6.3. Priprema uzoraka za ispitivanje veze inserata sa materijalima

Za testiranje veze sa restaurativnim materijalima pripremljeno je 35 HAP inserata, koji su podeljeni u 7 eksperimentalnih grupa po 5 uzoraka u grupi. Testirane grupe navedene su u Tabeli 10.

Tabela 10. Eksperimentalne grupe za ispitivanje jačine veze materijala i HAP inerata

Grupa	Kôd	Materijal i način primene
1	Z250_SBU_TE	Konvencionalni kompozit Z250 + protokol aplikacije Single Bond Universal adheziva uz kiselinsko nagrivanje inserta
2	Tečni_SBU_TE	Tečni kompozit Filtek Ultimate Flowable + protokol aplikacije Single Bond Universal adheziva uz kiselinsko nagrivanje inserta
3	Z250_SBU_SE	Konvencionalni kompozit Z250 + samonagrizajući protokol aplikacije Single Bond Universal adheziva
4	Tečni_SBU_SE	Tečni kompozit Filtek Ultimate Flowable + samonagrizajući protokol aplikacije Single Bond Universal adheziva
5	Vitrebond	Glas-jonomer Vitrebond, bez pretretmana inserta
6	Z250	Konvencionalni kompozit, bez pretretmana inserta
7	Tečni	Tečni kompozit, bez pretretmana inserta

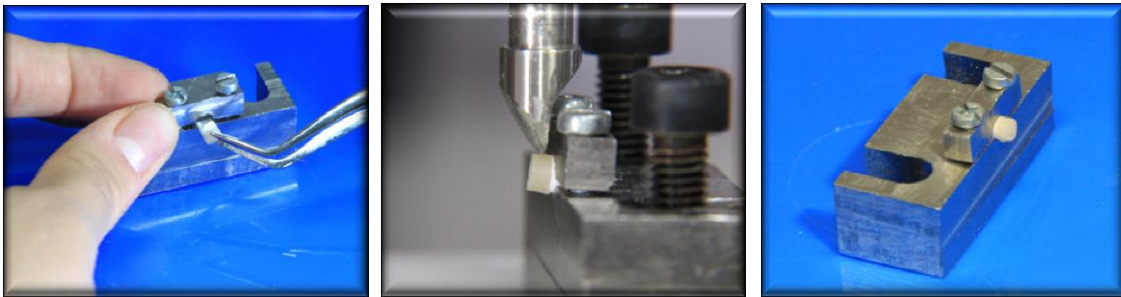
Kiselinsko nagrivanje inserta (grupe 1 i 2) urađeno je 37% fosfornom kiselinom u trajanju od 15 s, nakon čega su inserti obilno isprani vodenim sprejom. Aplikatorom je u toku 5 s utapkavan adheziv – Single Bond Univerzal, raspršen pusterom 1 s sa daljine od 20 cm i polimerizovan 20 s sa rastojanja od 1 mm LED lampom (Grupe 1, 2, 3 i 4). Ovako pripremljeni inserti postavljeni su u kalupe od elastomera prečnika 4 mm (kao i prečnik inserta) i visine 3,6 mm tako da nakon postavljanja inserta na dno kalupa preostane slobodno 2 mm za aplikaciju restaurativnog materijala, univerzalnog kompozita (Filtek Z250), tečnog kompozita (Filtek Ultimate Flowable) ili glas-jonomer cementa (Vitrebond). Materijali su po aplikaciji prosvetljeni LED lampom (LEDition) tj. svetlosno polimerizovani 40 s, oslobođeni iz kalupa i testirani u narednih 30 min.

2.6.4. Ispitivanje veze inserata sa materijalima

Insert je fiksiran u za to konstruisano ležište koje je postavljeno u univerzalni merač sile. Na cirkumferenciju resturativnog materijala, na 1 mm rastojanja od spoja sa insertom primenjena je sila smicanja (Slika 29), brzinom 1 mm/min do loma. Jačina veze (τ) izračunata je pomoću formule:

$$\tau = \frac{F}{A}$$

gde τ predstavlja jačinu veze (MPa), F maksimalnu dostignutu silu u momentu pucanja (N), A površinu vezivanja sa insertom (mm^2).

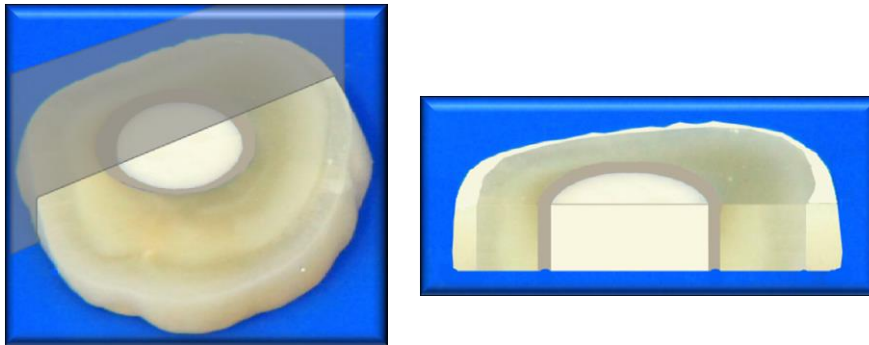


Slika 29. Ispitivanje jačine veze restaurativnih materijala sa HAP insertima fiksiranim u konstruisanom ležištu

Nakon loma svaki uzorak je posmatran svetlosnim mikroskopom pod uveličanjem x30 da se utvrdi tip loma: 1) adhezivni (na spoju materijala i inserta); 2) kohezivni (lom unutar materijala ili unutar inserta); 3) mešoviti (fraktura delom na adhezivnom spoju, a delom u insertu i/ili materijalu).

2.6.5. SEM analiza veze materijala sa dentinom i HAP insertom

Dentinski diskovi restaurisani sa i bez upotrebe HAP inserata presečeni su testerom tako da se eksponira spoj restaurativnog materijala sa dentinom, odnosno spoj materijala sa dentinom i sa HAP insertom u grupama gde je on korišćen (Slika 30). Uzorci su pripremljeni naparavanjem u AU-Pd naparivaču i posmatrani SEM-om.



Slika 30. Presek restaurisanog dentinskog diska korišćen za SEM analizu

2.7. Statistička analiza

Statistička analiza je urađena i softverskom paketu Minitab 16 (Minitab Inc., State College, PA, SAD). Podaci su obrađeni metodama deskriptivne analize: mere centralne tendencije (aritmetička sredina) i mere disperzije (standardna devijacija). Hipoteze su testirane primenom analitičkih metoda i to parametarskim testovima: t-test za zavisne uzorke, jednofaktorska i dvofaktorska analiza varijanse (ANOVA). Pre primene parametarskog testiranja, potvrđeni su neophodni uslovi za validnost parametarskog testiranja, odnosno normalnost distribucije podataka (histogram i Kolmogorov-Smirnov test) i podudarnost varijansi (Levenov i Bartletov test). U slučaju potrebe, log ili sqrt funkcijama izvršena je transformacija podataka.

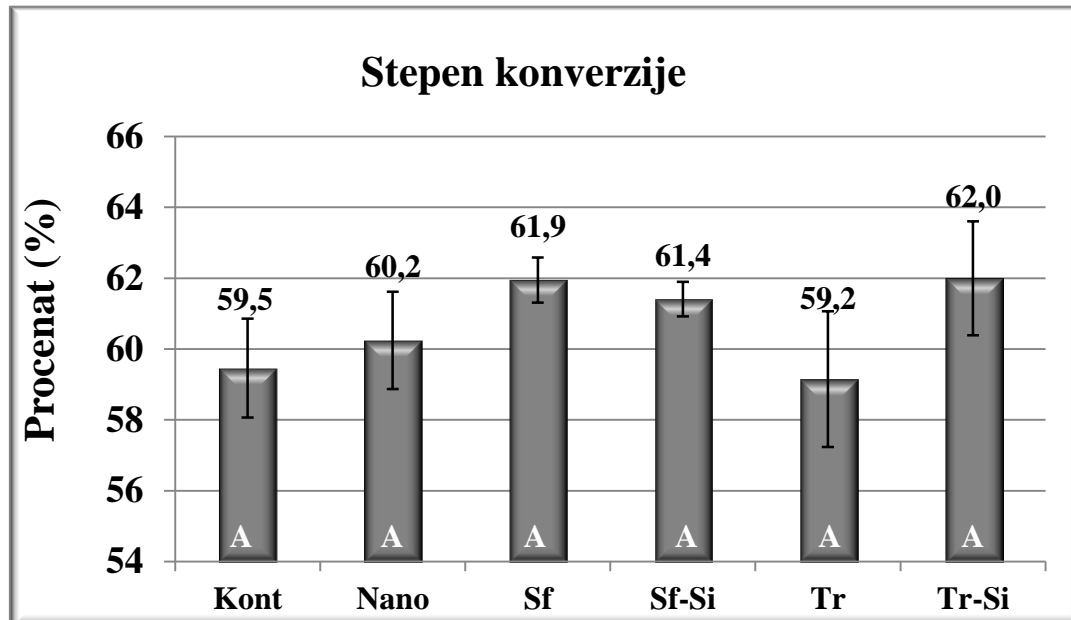
Podaci za tvrdoću eksperimentalnih kompozita dobijeni inicijalno i nakon artefijelnog “starenja” analizirani su t-testom za zavisne uzorke imajući u vidu da su korišćeni isti uzorci. U delu o adhezivima *TE_E* grupe su upoređivane jednofaktorskom ANOVA-om sa Tukey post-hoc testom. Svi drugi podaci analizirani dvofaktorskom ANOVA-om sa interakcijom faktora. Prilikom analize podataka za eksperimentalne kompozite, identifikovani su faktori “grupa” i “vreme”. Prilikom analize podataka za dentalne adhezive (*SBU_SE* i *SBU_TE* grupe), identifikovani su faktori “HAP” i “Protokol”. U slučaju postojanja statističke značajnosti, podaci su dalje analizirani jednofaktorskom ANOVA-om sa Tukey post-hoc testom i Bonferroni korekcijom. Nivo značajnosti za sve testove iznosio je na $\alpha=0,05$. Rezultati su prikazani tabelarno i grafički.

3. REZULTATI

3.1. Kompoziti

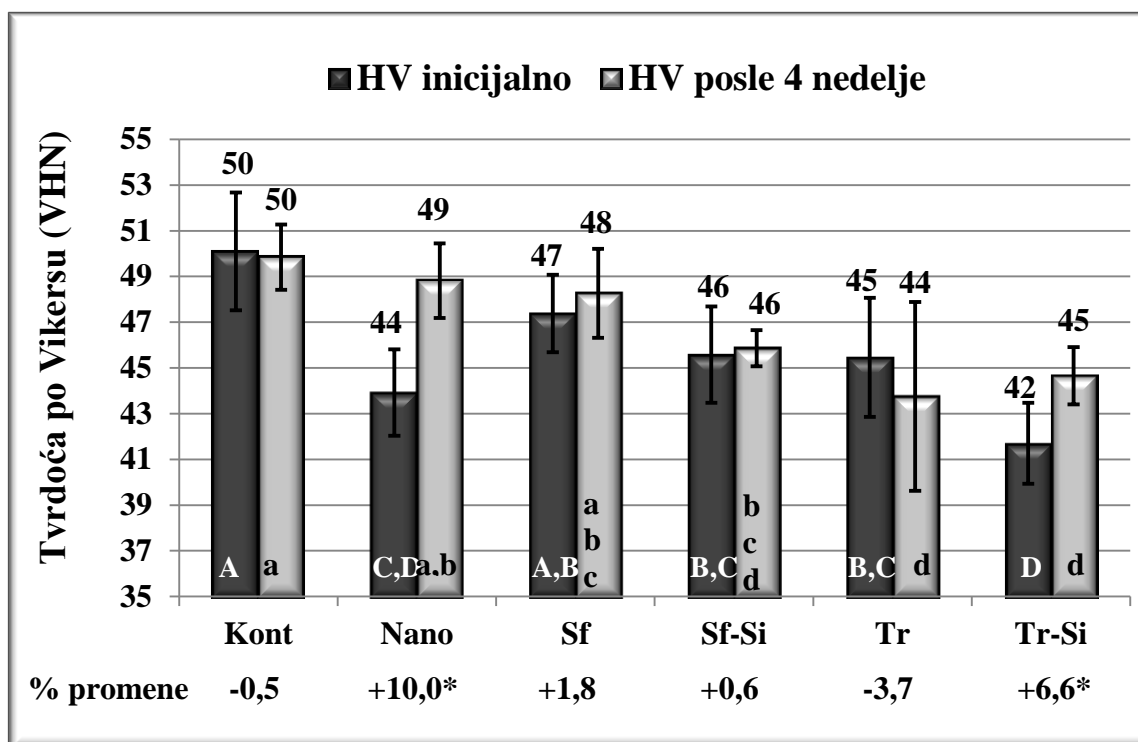
Srednja vrednost i standardne devijacije za Stepenu konverzije (DC), Tvrdoću po Vikersu (HV), Savojnu čvrstoću (Fs), Savojni moduo elastičnosti (Ef), Kompresivnu čvrstoću (Cs) i Kompresivni moduo elastičnosti (Ec) su prikazani su na grafikonima 1-7. *Kont* je kontrolna grupa bez HAP punilaca, *Nano* je grupa sa dodatkom nano-HAP-a, *Sf* je grupa sa dodatkom HAP sfera, *Sf_{Si}* je grupa sa dodatkom SiO₂ dopiranih HAP sfera, *Tr* je grupa sa dodatkom HAP traka i *Tr_{Si}* je grupa sa dodatkom SiO₂ dopiranih HAP traka.

Na Grafikonu 1 su prikazani rezultati stepena konverzije. Uočava se da nema statistički značajne razlike u vrednostima stepena konverzije između testiranih grupa ($p>0,05$) (Ista slova u stubiću znače da nema statistički značajne razlike između testiranih grupa).



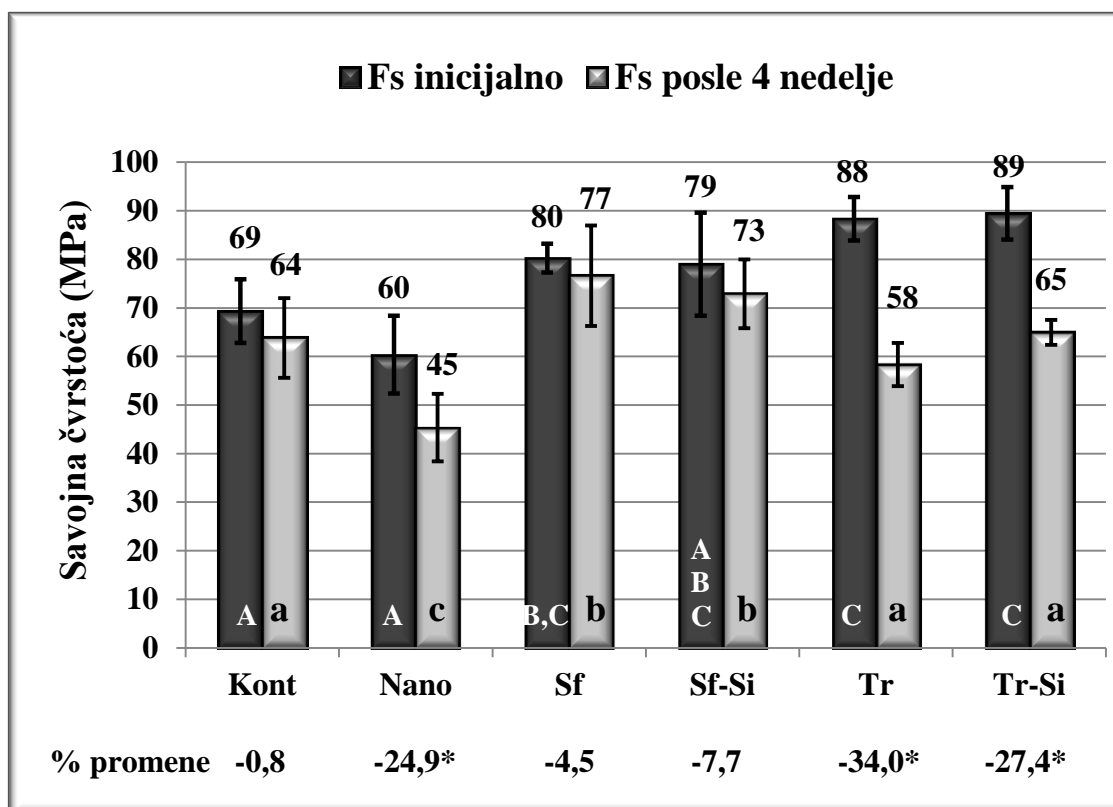
Grafikon 1. Stepenu konverzije

Tvrdoća po Vickersu testiranih kompozita inicijalno i nakon 4 nedelje prikazana je na Grafikonu 2. HV vrednosti (Vickers Hardness number VHN) su se smanjile sa dodatkom HAP-a u svim grupama u odnosu na kontrolni kompozit bez HAP-a ($p < 0,05$), izuzev u *Sf* grupi, gde nije postojala statistički značajna razlika u odnosu na kontrolnu grupu ($p > 0,05$). Posle artefijalnog “starenja” tokom 4 nedelje, *Nano* i *Tr_{Si}* grupe su pokazale značajno povećanje HV (za 6,6% i 10%, redom). Najviše vrednosti tvrdoće od grupa sa dodatkom HAP-a je imao kompozit sa sferama. Na Grafikonu 2, ista velika slova u stubićima označavaju da nema statistički značajne razlike u tvrdoći između grupa merenoj inicijalno, dok ista mala slova označavaju da nema statistički značajne razlike u tvrdoći merenoj nakon ‘starenja’ tokom 4 nedelje. Procenat promene tvrdoće nakon ‘starenja’ u odnosu na inicijalnu vrednost prikazan je u dnu grafikona, pri čemu zvezdica u superskriptu označava da je došlo do značajne promene u izmerenoj vrednosti.



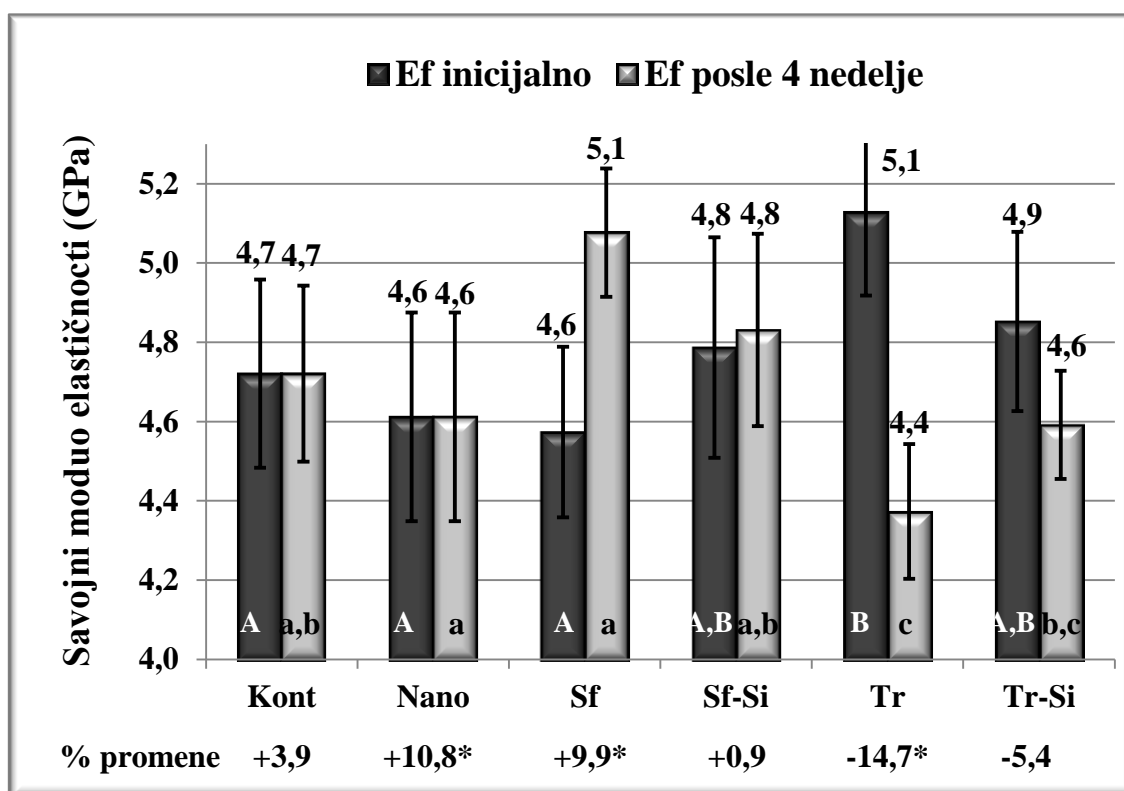
Grafikon 2. Tvrdoća po Vickersu kompozita inicijalno i nakon 4 nedelje

Savojna čvrstoća testiranih kompozita inicijalno i nakon 4 nedelje prikazana je na Grafikonu 3. Vrednosti F_s su bile značajno više u kompozitima sa Sf , Tr i Tr_{Si} u poređenju sa kontrolnim kompozitom bez HAP-a ($p < 0,05$), bez značajne razlike među grupama Sf , Sf_{Si} , Tr i Tr_{Si} ($p > 0,05$). Posle potapanja tokom 4 nedelje F_s vrednosti su u svim grupama bile niže za 4,5% (Sf) do 34% (Tr) u odnosu na početne vrednosti. U grupama Sf i Sf_{Si} registrovane su više vrednosti F_s u odnosu na kontrolni kompozit posle stajanja 4 nedelje u HBSS-u ($p < 0,05$). Na Grafikonu 3, ista velika slova u stubićima označavaju da nema statistički značajne razlike u savojnoj čvrstoći između grupa merenoj inicijalno, dok ista mala slova označavaju da nema statistički značajne razlike u savojnoj čvrstoći merenoj nakon 'starenja' tokom 4 nedelje. Procenat promene savojne čvrstoće nakon 'starenja' u odnosu na inicijalnu vrednost prikazan je u dnu grafikona, pri čemu zvezdica u superskriptu označava da je došlo do značajne promene u izmerenoj vrednosti.



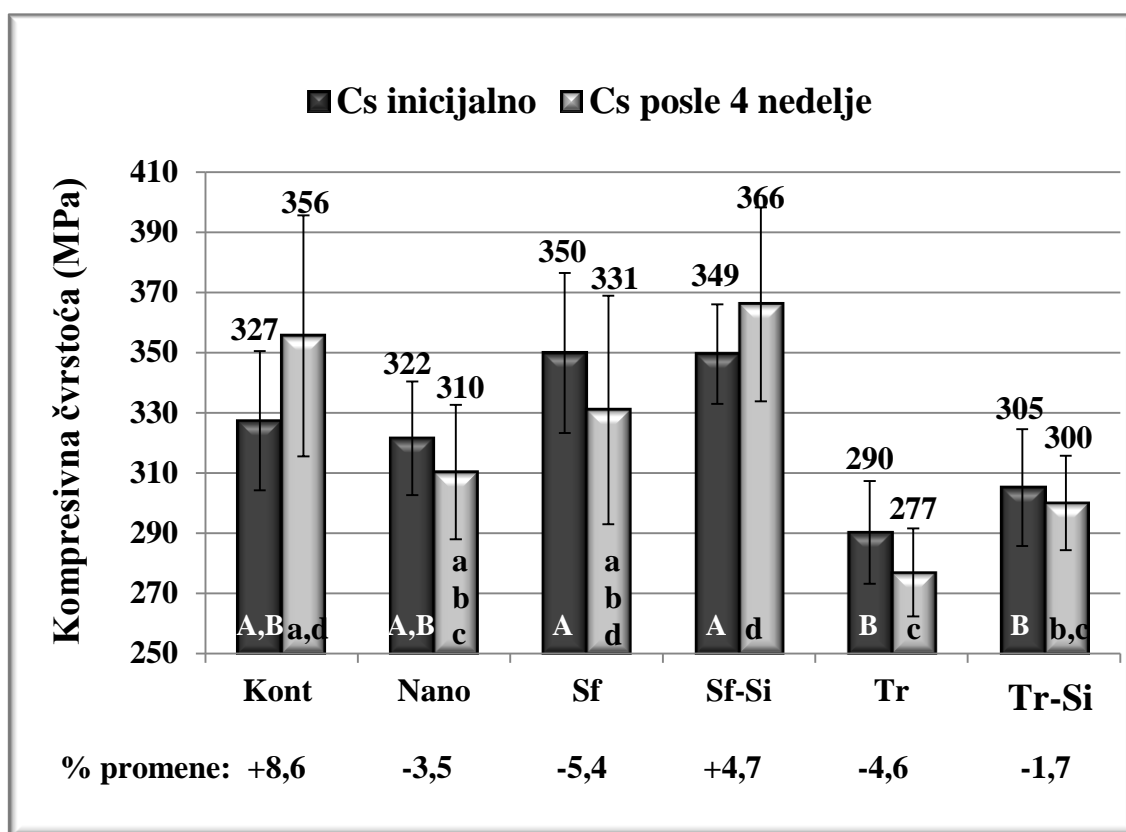
Grafikon 3. Savojna čvrstoća kompozita inicijalno i nakon 4 nedelje

Savojni moduo elastičnosti testiranih kompozita inicijalno i nakon 4 nedelje prikazan je na Grafikonu 4. Inicijalno, vrednosti Ef su bile slične u svim grupama izuzev u grupi *Tr*. Vrednosti Ef u grupama *Nano* i *Sf* značajno su porasle posle potapanja u HBSS (za 10,8% odnosno 9,9%, redom) ali i značajno opale u grupi *Tr* (za 14,7%) ($p < 0,05$). Na Grafikonu 4, ista velika slova u stubićima označavaju da nema statistički značajne razlike u savojnom modulu elastičnosti između grupa merenom inicijalno, dok ista mala slova označavaju da nema statistički značajne razlike u savojnom modulu elastičnosti merenom nakon ‘starenja’ tokom 4 nedelje. Procenat promene savojnog modula elastičnosti nakon ‘starenja’ u odnosu na inicijalnu vrednost prikazan je u dnu grafikona, pri čemu zvezdica u superskriptu označava da je došlo do značajne promene u izmerenoj vrednosti.



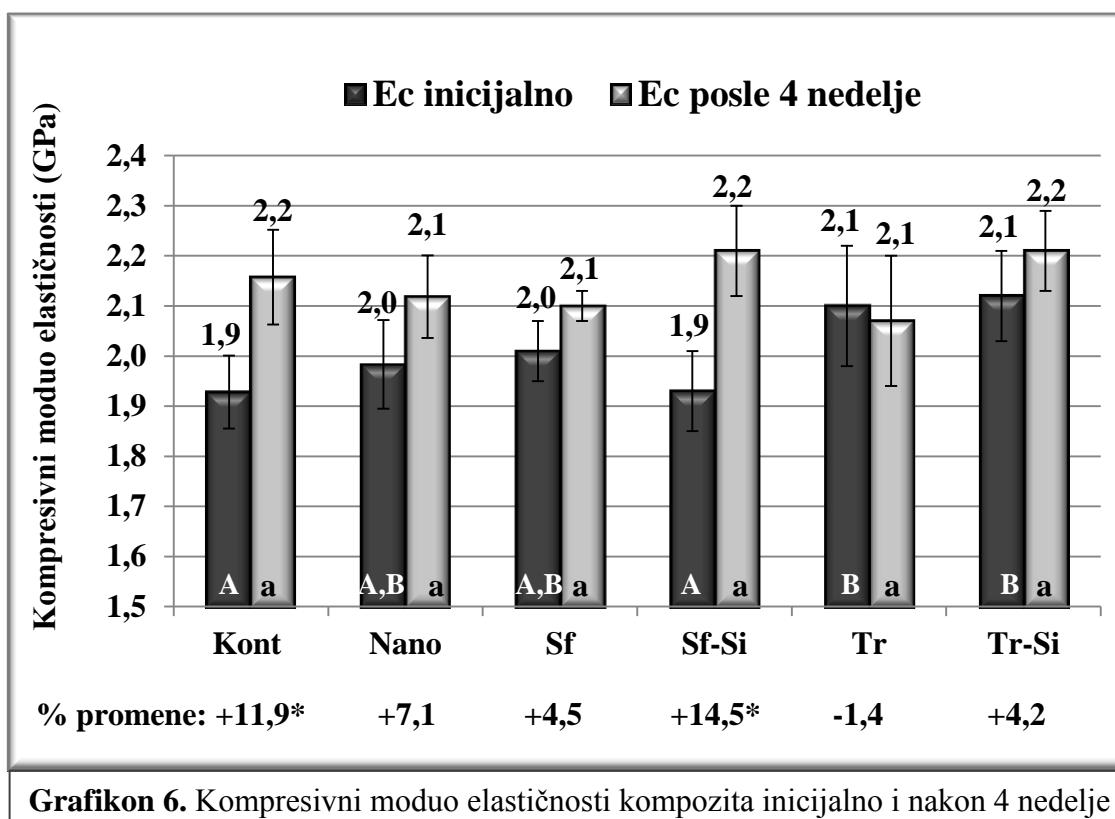
Grafikon 4. Savojni moduo elastičnosti kompozita inicijalno i nakon 4 nedelje

Vrednosti kompresivne čvrstoće testiranih kompozita inicijalno i nakon 4 nedelje prikazane su na Grafikonu 5. Vrednosti Cs su inicijalno bile slične između eksperimentalnih grupa i kontrolne grupe ($p < 0,05$). Grupe *Sf* i *Sf_{Si}* su pokazale veće Cs vrednosti nego grupe *Tr* i *Tr_{Si}* ($p < 0,05$). Potapanje u HBSS nije imalo značajnog uticaja na promene vrednosti Cs ($p = 0,316$ za grupa*vreme interakciju). Na Grafikonu 5, ista velika slova u stubićima označavaju da nema statistički značajne razlike u kompresivnoj čvrstoći između grupa merenoj inicijalno, dok ista mala slova označavaju da nema statistički značajne razlike u kompresivnoj čvrstoći merenoj nakon ‘starenja’ tokom 4 nedelje. Procenat promene kompresivne čvrstoće nakon ‘starenja’ u odnosu na inicijalnu vrednost prikazan je u dnu grafikona, pri čemu zvezdica u superskriptu označava da je došlo do značajne promene u izmerenoj vrednosti.

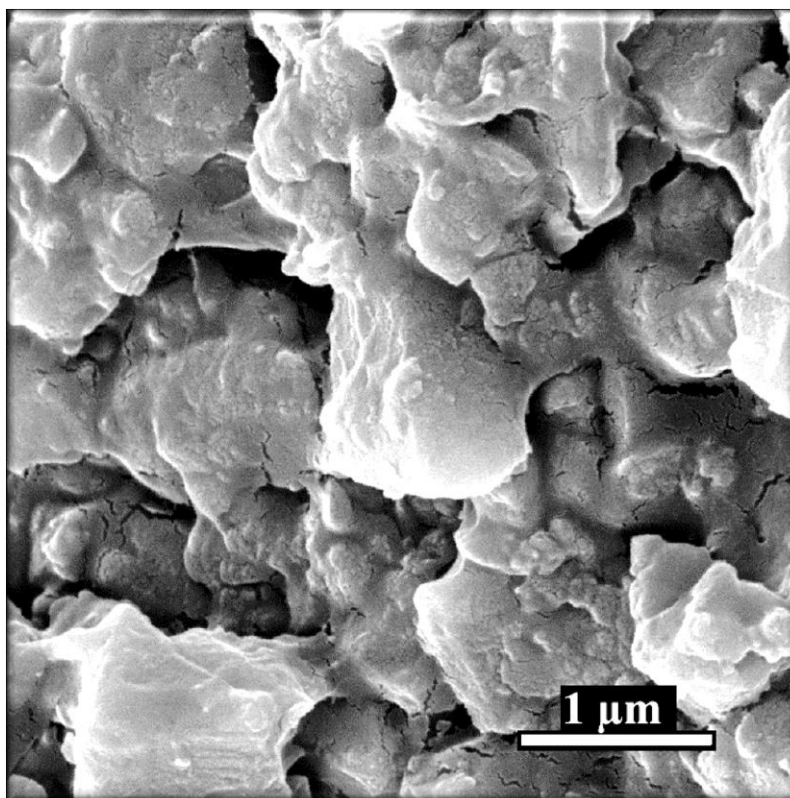


Grafikon 5. Kompresivna čvrstoća kompozita inicijalno i nakon 4 nedelje

Vrednosti kompresivnog modula elastičnosti testiranih kompozita inicijalno i nakon 4 nedelje prikazane su na Grafikonu 6. Između eksperimentalnih i kontrolne grupe nije bilo statistički značajne razlike u vrednostima E_c , izuzev grupa Tr i Tr_{Si} , koje su pokazale značajno više vrednosti E_c ($p < 0,05$). Posle potapanja u HBSS, vrednosti E_c su značajno porasle u kontrolnoj i Sf_{Si} grupi (za 11,9% odnosno 14,5%, redom). Na Grafikonu 6, ista velika slova u stubićima označavaju da nema statistički značajne razlike u kompresivnom modulu elastičnosti između grupa merenom inicijalno, dok ista mala slova označavaju da nema statistički značajne razlike u kompresivnom modulu elastičnosti merenom nakon ‘starenja’ tokom 4 nedelje. Procenat promene kompresivnog modula elastičnosti nakon ‘starenja’ u odnosu na inicijalnu vrednost prikazan je u dnu grafikona, pri čemu zvezdica u superskriptu označava da je došlo do značajne promene u izmerenoj vrednosti.



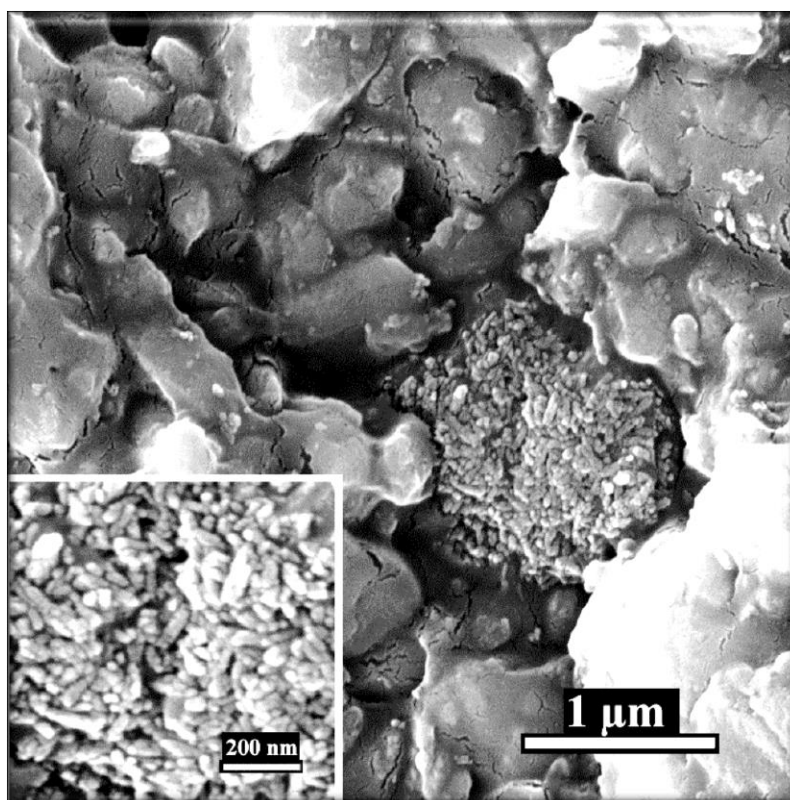
SEM analizom fragmenata kompozita dobijenih nakon testa savijanja u tri tačke, uočena je homogena distribucija punilaca u smolastom matriksu u kontrolnoj grupi (Slika 31) i svim eksperimentalnim grupama izuzev u *Nano* grupi, u kojoj je primećena aglomeracija čestica HAP-a (Slika 32).



Slika 31. SEM mikrografija fragmenta kompozita kontrolne grupe nakon testa savijanja u tri tačke

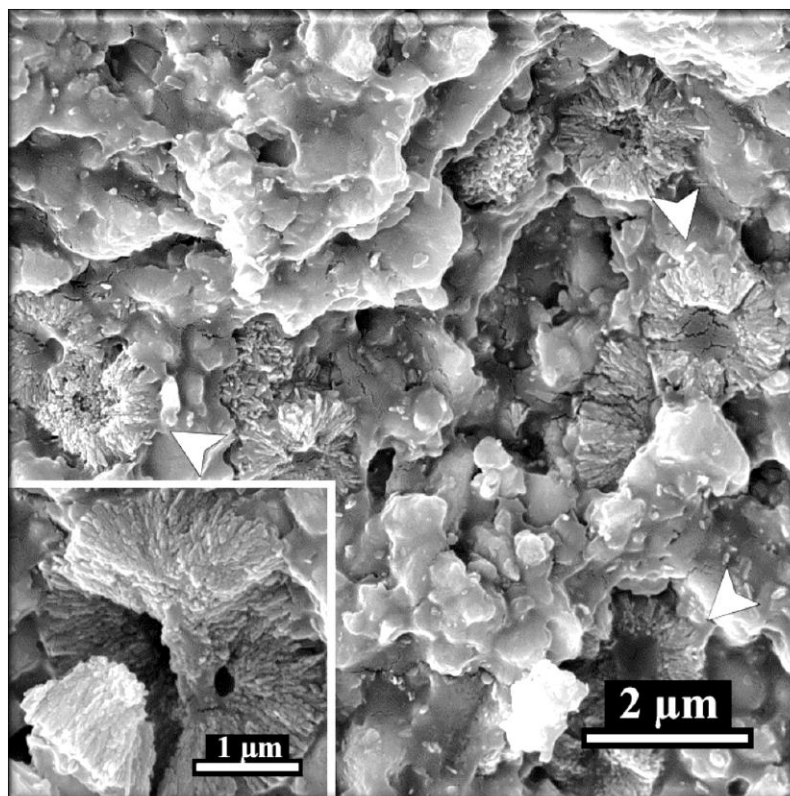
Trake i sfere su imale homogenu distribuciju u kompozitima bez prisutne aglomeracije, sa pojedinačnim česticama inkorporiranim u organski matriks (Slike 33 do 36). Trake su bile orjentisane u svim smerovima. SEM analiza fragmenata, nakon testa savijanja u tri tačke, pokazala je da sfere pucaju na jedan način i to kroz centralnu šupljinu, dok su HAP trake pokazale tri načina loma: (1) transverzalni lom, (2) longitudinalnu delaminaciju i (3) mešoviti tip loma. Longitudinalna delaminacija je otkrila laminarnu internu strukturu HAP traka. Transverzalni lomovi su se javljali češće u odnosu na ostala dva tipa loma kako pre, tako i posle potapanja tj. 'starenja'. Odnos transverzalnih lomova prema longitudinalnoj delaminaciji i mešovitom tipu loma bio je

oko 2:1 inicijalno i 4:1 posle potapanja, dakle posle potapanja transverzalni tip loma je postao još dominantniji u odnosu na preostala dva tipa loma. Lom sfera kroz centralnu šupljinu ostao je dominantan i nakon potapanja, mada je ‘čupanje’ intaktnih sfera iz smolastog matriksa postalo zastupljenije. SEM lomne strane fragmenata reprezentativnih uzoraka *Sf* i *Tr_{Si}* grupa nakon ‘starenja’ u HBSS tokom 4 nedelje prikazani su na Slikama 37 i 38. Nakon ‘starenja’, na površini uzoraka koja je bila u kontaktu sa rastvorom uočava se mestimična pojava kristalita koja ukazuje na bioaktivnost eksperimentalnih kompozita sa HAP puniocima (Slika 39).

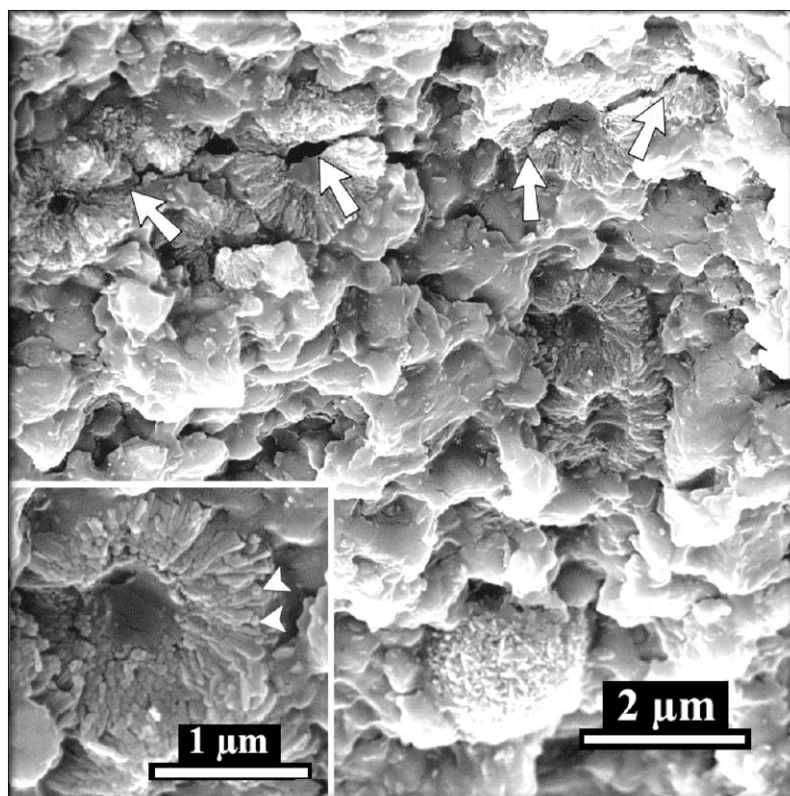


Slika 32. SEM mikrofografija frakturiranog kompozitnog uzorka Nano grupe sa prikazanim aglomeratom nano-HAP čestica na manjoj slici.

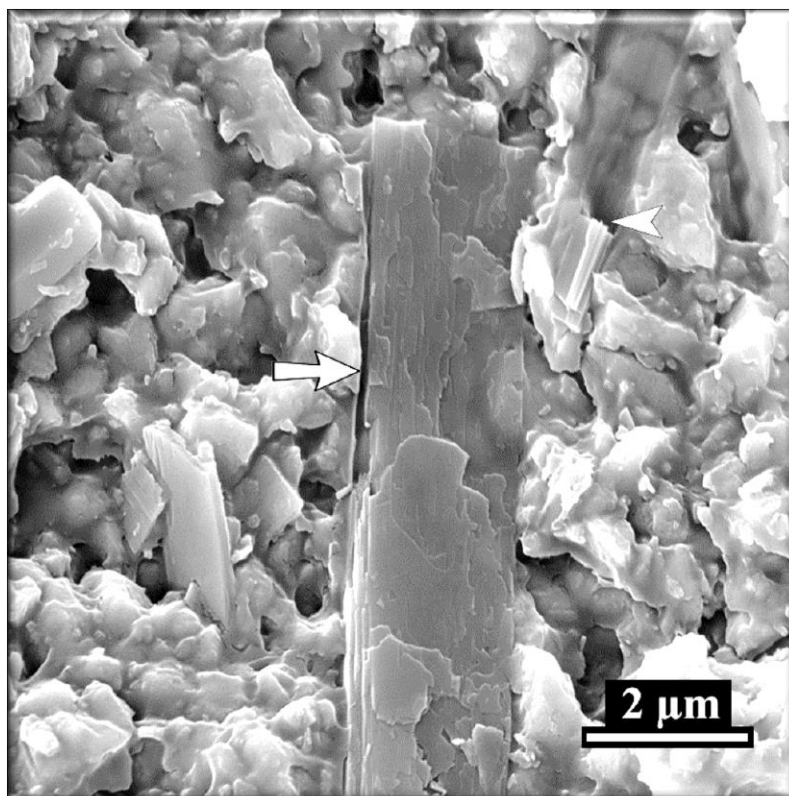
Slika 33. SEM mikrografija frakturiranog kompozitnog uzorka Sf grupe pre „starenja“ u HBSS. Beli pointeri pokazuje dobru vezu organskog matriksa sa sferom. Uočava se da su HAP sfere aglomerati fuzionisanih primarnih štapićastih nanočestica koje su radialno orjentisane oko centralne šupljine



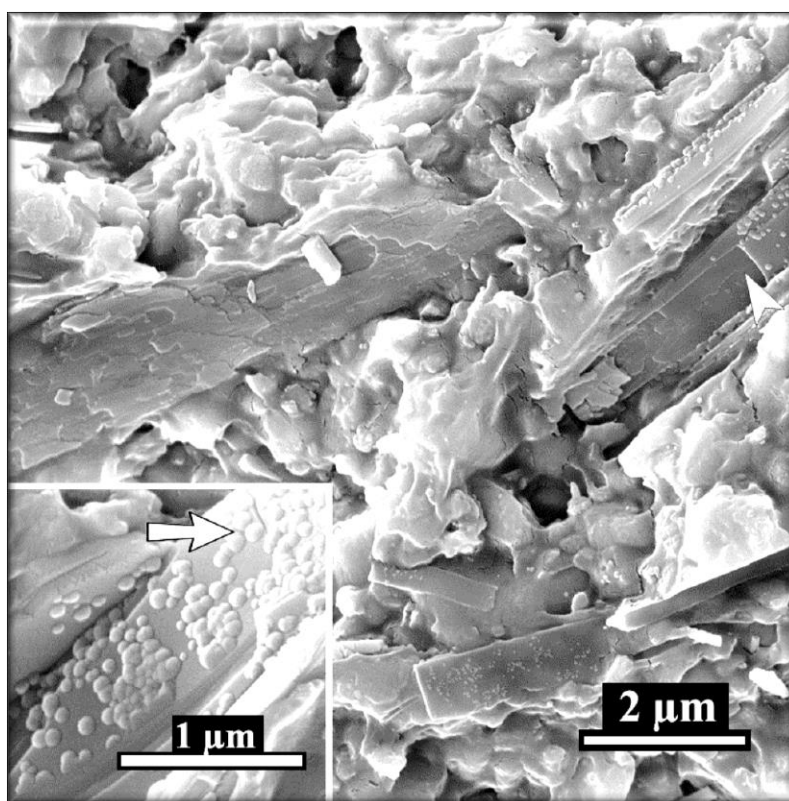
Slika 34. SEM mikrografija frakturiranog kompozitnog uzorka Sfsi grupe pre „starenja“ u HBSS. Bele strelice pokazuju frakturnu liniju koja prolazi kroz sfere. Beli pointeri na maloj slici desno (insert slika) pokazuju čestice SiO₂ kao sferne dodatke na površini HAP sfere



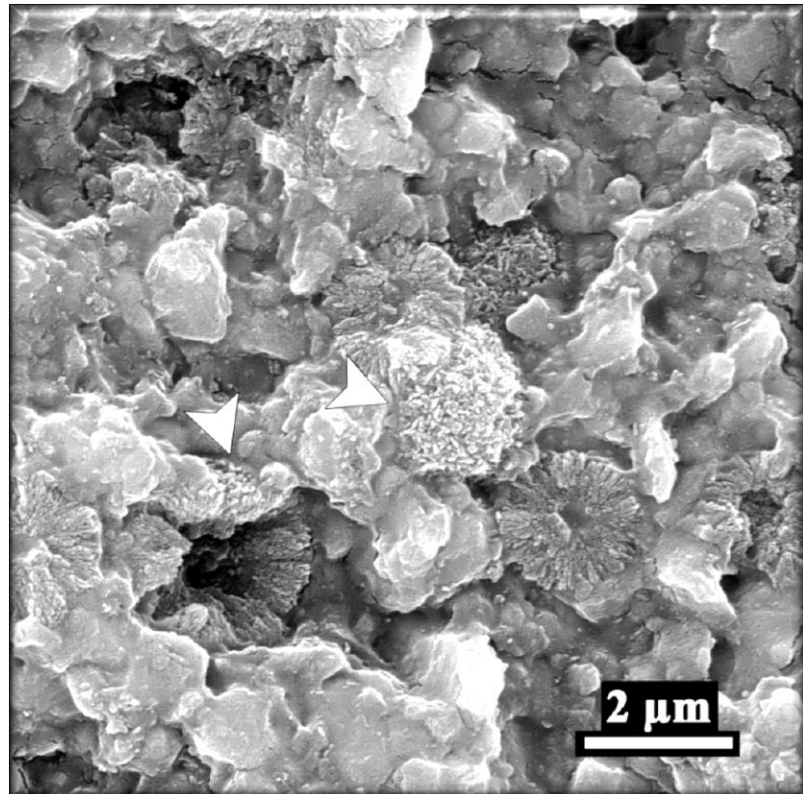
Slika 35. SEM mikrografija frakturiranog kompozitnog uzorka Tr grupe pre „starenja“ u HBSS. Beli pointer pokazuje delimično iščupanu i delimično polomljenu HAP traku. Bela strelica pokazuje debondiranje između HAP trake i smola. Uzdužna fraktura otkriva lamelarnu unutrašnju strukturu HAP traka



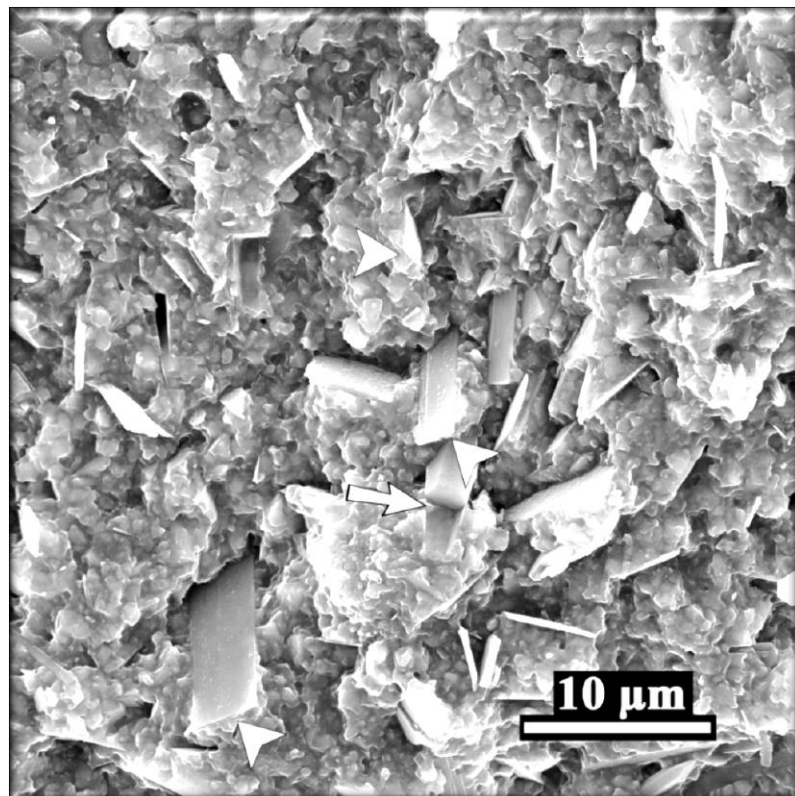
Slika 36. SEM mikrografija frakturiranog kompozitnog uzorka Tr_{Si} grupe pre „starenja“ u HBSS. Beli pointer pokazuje mešoviti tip loma, kombinaciju uzdužne delaminacije i poprečne frakture. Bela strelica na maloj slici (insert) pokazuje dopirane čestice SiO₂

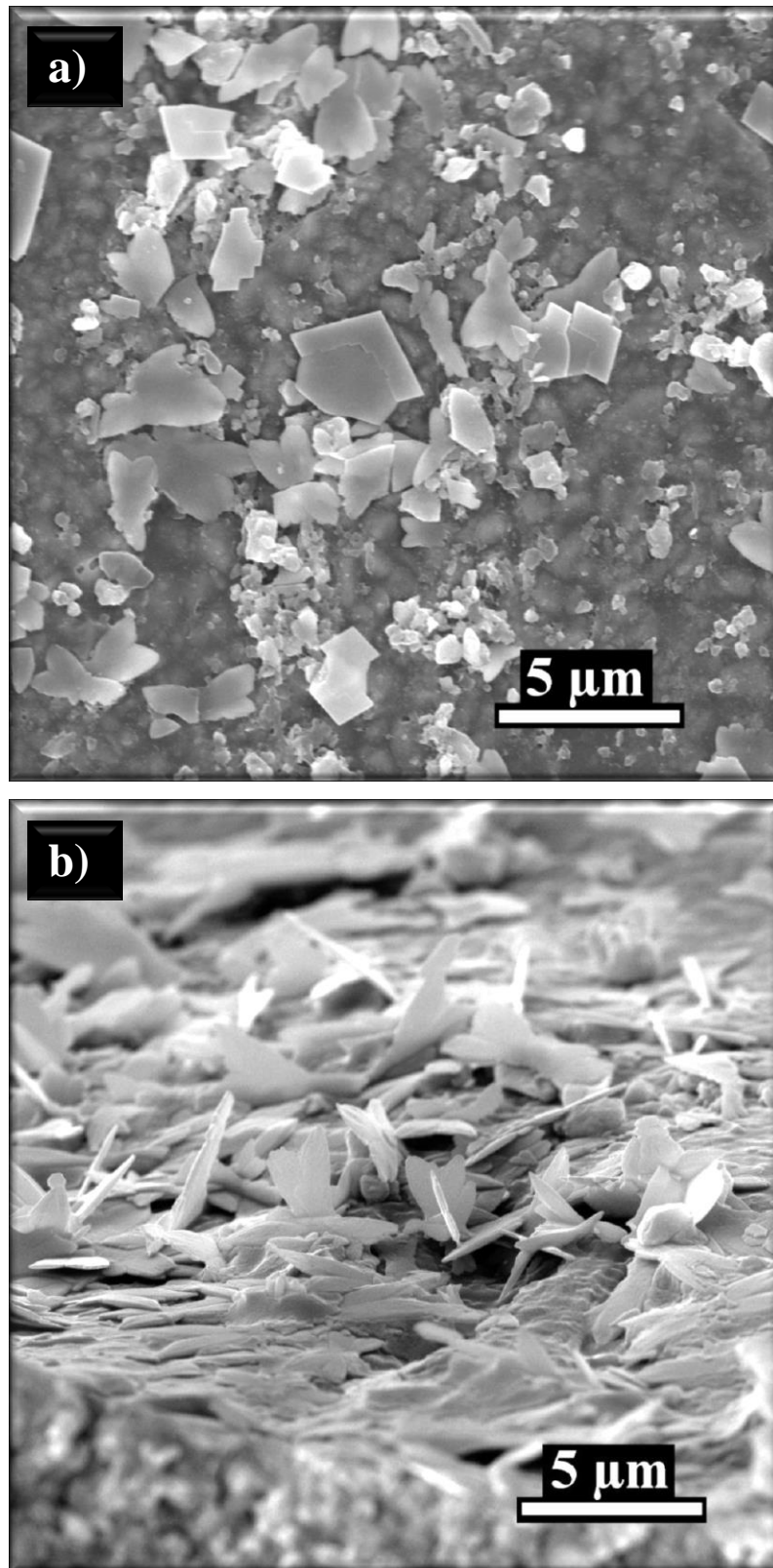


Slika 37. SEM mikrografija frakturiranog kompozitnog uzorka Sf grupe posle „starenja“ u HBSS. Beli pointeri pokazuju dobru vezu HAP sfera sa organskim matriksom



Slika 38. SEM mikrografija frakturiranog kompozitnog uzorka Tr_{Si} grupe posle „starenja“ u HBSS. Beli pointeri pokazuju poprečno polomljene HAP trake. Bela strelica pokazuje otisak od iščupanog dela poprečno polomljene trake





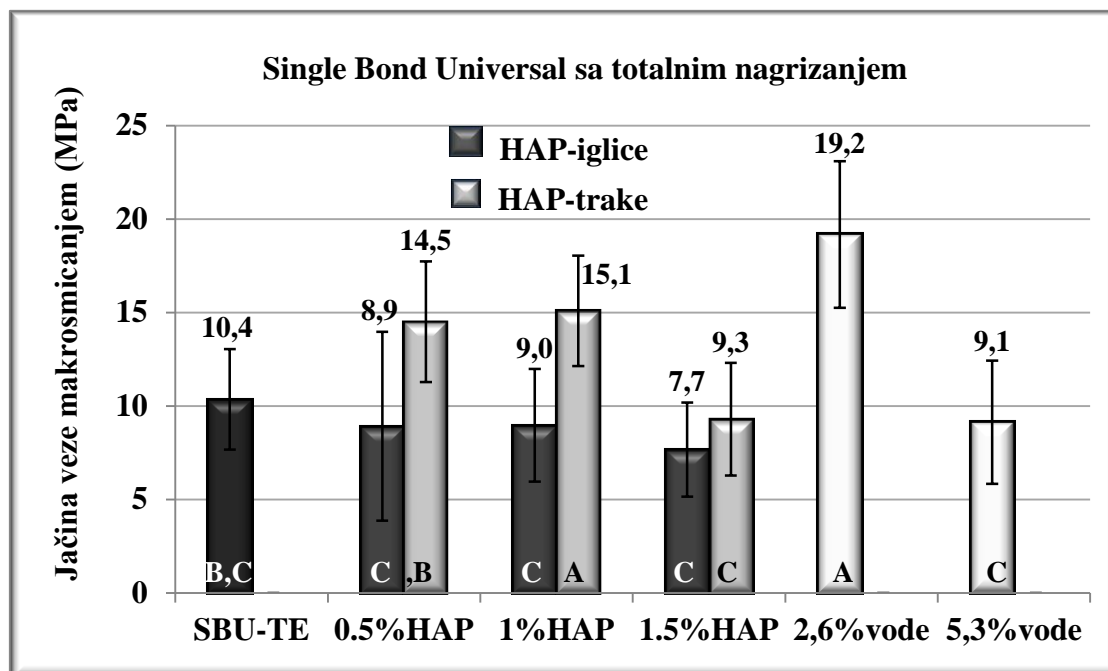
Slika 39. SEM mikrografije površine reprezentativnih uzoraka kompozita sa HAP puniocima nakon 'starenja' u HBSS, **a)** pogled odozgo i **b)** pogled iz profila. Mogu se uočiti novoformirani kristaliti što govori o njihovoj bioaktivnosti

3.2. Adhezivi

Grafikoni 7-9 predstavljaju rezultate ispitivanja jačine veze adheziva sa dodatkom HAP punilaca za dentin. Kôd za testirane grupe čini skraćena korišćenog komercijalnog adheziva (**SBU** - Single Bond Universal ili **TeE** – TeEconom Bond), protokol aplikacije adheziva kod SBU grupa (**TE** – ‘total etch’ i **SE** – ‘self etch’), maseni **udeo HAP-a** u procentima i tip HAP-a (**HAP-iglice** ili **HAP-trake**).

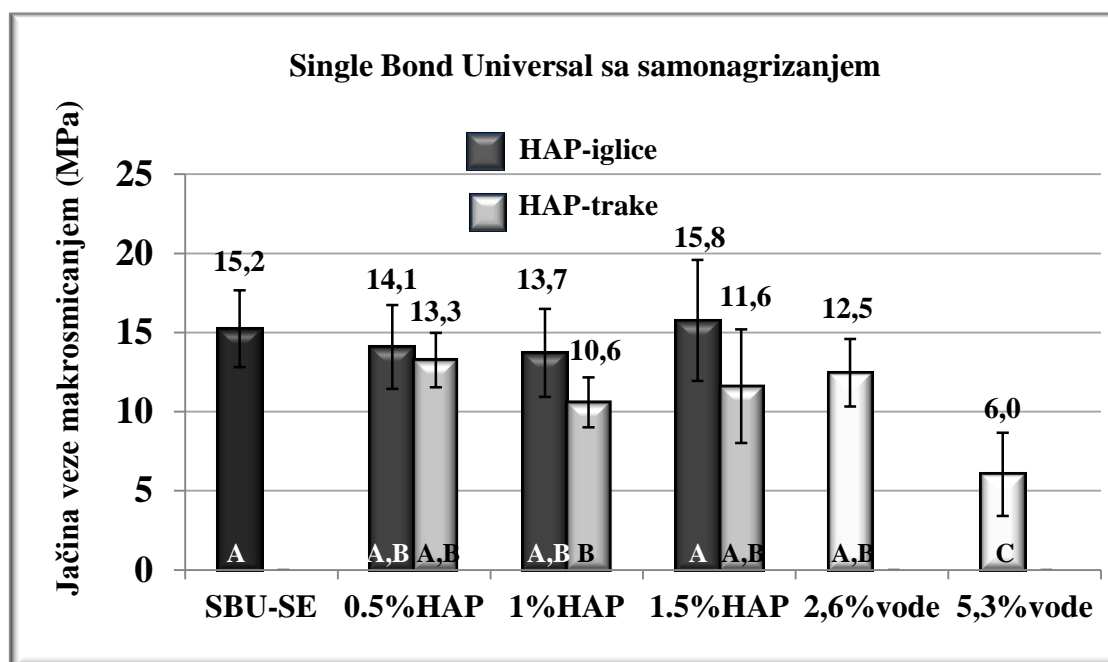
Jačina veze sa dentinom značajno se razlikovala kod SBU adheziva zavisno od primene po ‘total-etch’ ili ‘self-etch’ protokolu ($p=0,034$). Osim toga grupe sa različitim udelom HAP-a takođe su se značajno razlikovale ($p<0,001$). Pošto se interakcija između faktora ‘Protokol’ i ‘HAP’ pokazala statistički značajnom ($p<0,001$), dodatno je urađen i jednofaktorski ANOVA test za grupe *SBU_SE* i *SBU_TE* zasebno.

Grafikon 7 prikazuje vrednosti jačine veze za dentin SBU adheziva primenjenog po TE protokolu, bez i sa HAP puniocima, kao i sa odgovarajućim dodatkom vode. U grupama *SBU_TE-0,5%HAP-trake* i *SBU_TE-1%HAP-trake* su uočene veće vrednosti jačine veze sa dentinom u poređenju sa drugim *SBU_TE* grupama koje sadrže HAP ($p<0,05$). Osim toga, jačina veze sa dentinom u grupi *SBU_TE-1%HAP-trake* je bila značajno veća u odnosu na kontrolni, komercijalni *SBU_TE* ($p<0,05$), dok je u grupi *SBU_TE-0,5%HAP-trake* srednja vrednost jačine veze bila nešto veća u odnosu *SBU_TE* ali bez statističke značajnosti ($p>0,05$). Ista slova u stubićima označavaju da nema statistički značajne razlike među grupama.



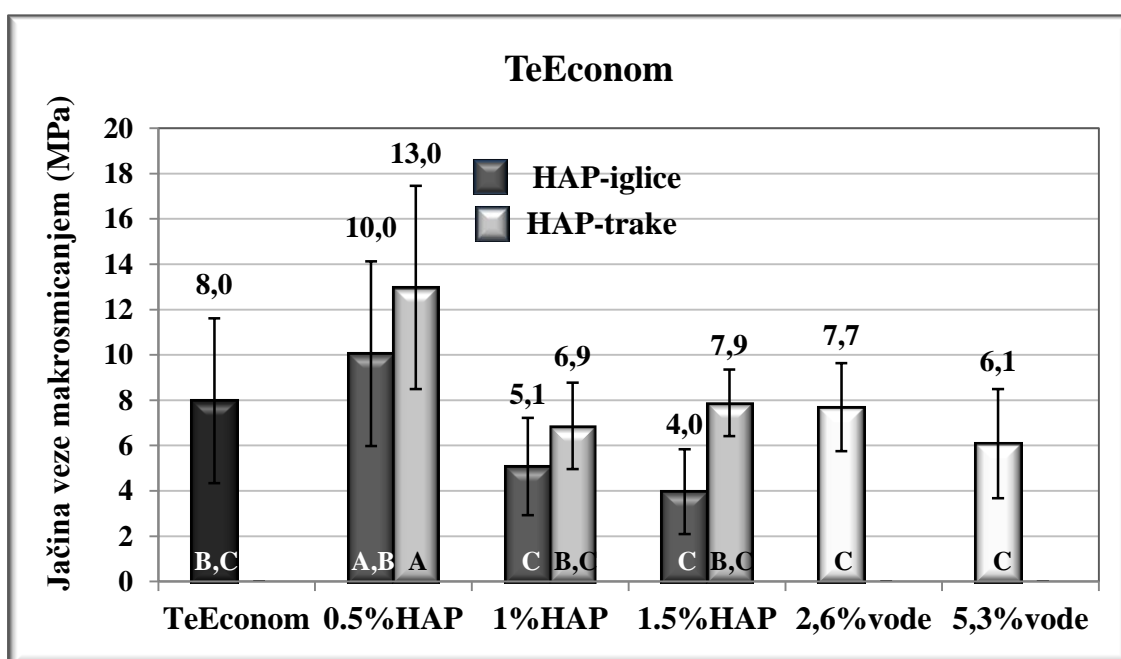
Grafikon 7. Jačina veze SBU_TE, bez i sa HAP puniocima i sa vodom

Grafikon 8 prikazuje SBU adheziv sa SE protokolom aplikacije. *SBU_SE* grupe sa HAP-om, izuzev *SBU_SE-1%HAP-trake*, su pokazale slične vrednosti jačine veze sa dentinom u odnosu na kontrolnu, komercijalnu *SBU_SE* grupu ($p > 0,05$). Ista slova u stubićima označavaju da nema statistički značajne razlike među grupama.



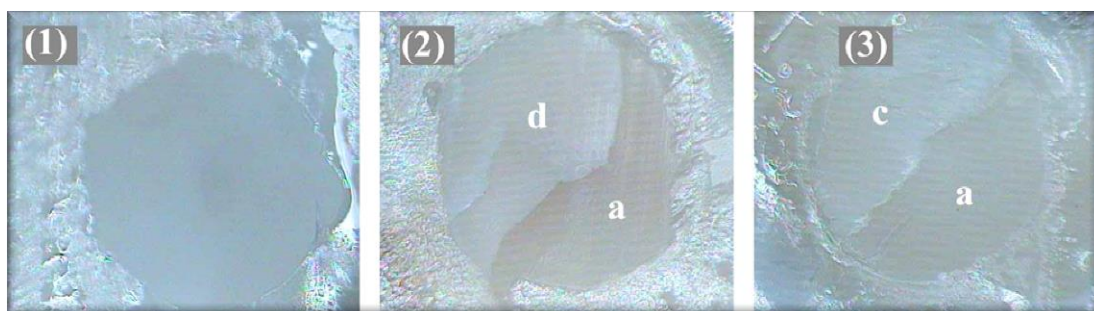
Grafikon 8. Jačina veze SBU_SE, bez i sa HAP puniocima i sa vodom

Grafikon 9 prikazuje rezultate za TeE adheziv bez i sa HAP-a i vode. Adheziv je aplikovan samo protokolom totalnog nagrizanja kako je preporučeno od proizvođača. Grupe *TeE_0,5%HAP-iglica* i *TeE_0,5%HAP-traka* su pokazale povećanje jačine veze u odnosu na druge grupe *TeE_HAP* ($p < 0,05$). Osim toga, grupa *TeE_0,5%HAP-traka* je pokazala značajno jaču vezu sa dentinom u odnosu na kontrolni, komercijalni *TeE* ($p < 0,05$), dok je grupa *TeE_0,5%HAP-iglica* pokazala veću srednju vrednost jačine veze nego *TeE* mada bez statističke značajnosti ($p > 0,05$). Ista slova u stubićima označavaju da nema statistički značajne razlike među grupama.



Grafikon 9. Jačina veze TeE, bez i sa HAP puniocima i sa vodom

Rezultati analize loma nakon testa smicanja prikazani su u Tabeli 11. *TeE* grupe sa HAP-om pokazale su uglavnom ‘adhezivni’ tip loma. U *SBU_SE* grupama najzastupljeniji tip loma bio je ‘mešoviti’, sa propagacijom frakturne linije u dentin. *SBU_TE* grupe sa HAP-iglicama u većini slučajeva su pokazale ‘adhezivni’, a sa HAP-trakama uglavnom ‘mešoviti’ tip loma. Uzorci sa većim vrednostima jačine veze imali su tendenciju ka ‘mešovitom’ tipu loma i to kombinaciji adhezivnog i kohezivnog loma u dentinu. Primeri tipova loma prikazani su na Slici 40.

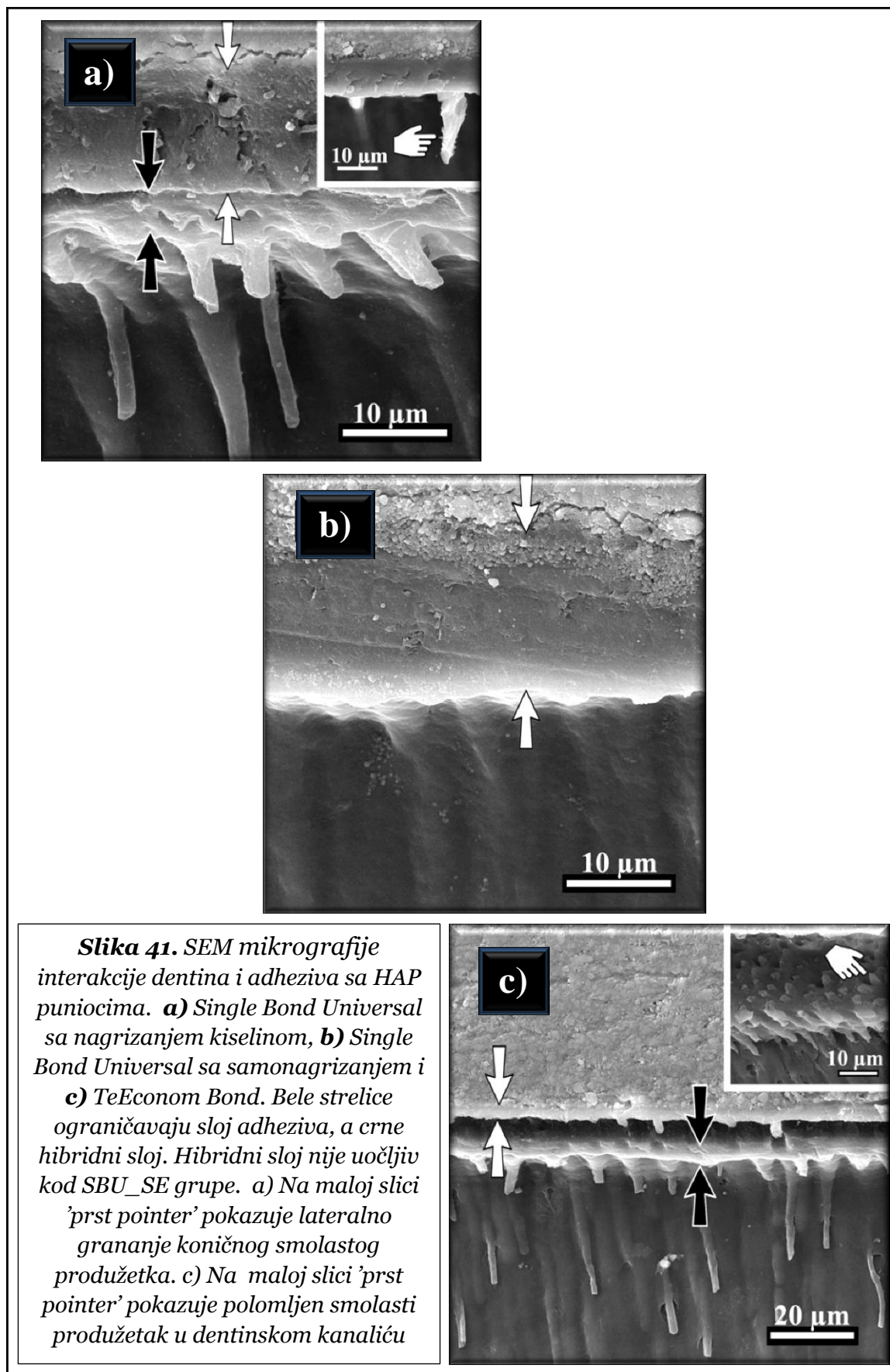


Slika 40. Tipovi loma nakon ispitivanja jačine veze adheziva sa dentinom. **1)** Adhezivni tip loma **2)** Mešoviti tip loma, d – lom u dentinu, a – adhezivni lom. **3)** Mešoviti tip loma, c – lom u kompozitu, a – adhezivni lom

Tabela 11. Tip loma testiranih adheziva sa i bez HAP-a. Apsolutne vrednosti i procenti adhezivnih/mešovitih/kohezivnih lomova

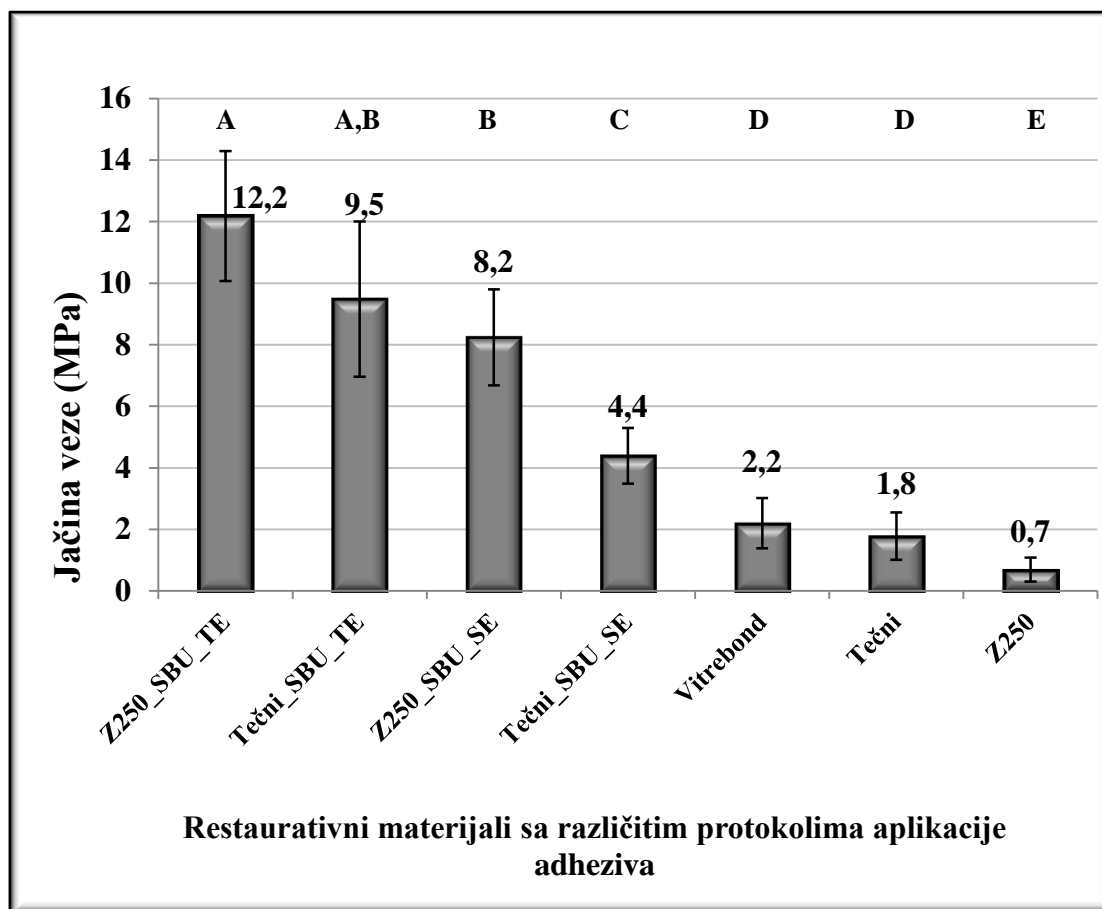
Adheziv	Grupa						
	Tip HAP-a	0,5 mas% HAP-a	1,0 mas% HAP-a	1,5 mas% HAP-a	Komercijalni adheziv kontrola	2,6 mas% vode kontrola	5,3 mas% vode kontrola
SBU_TE	HAP iglice	4 (66,7)/ 2 (33,3)/ 0	2 (33,3)/ 3 (50)/ 0	5 (83,3)/ 1 (16,7)/ 0	0/ 6 (100)/ 0	1 (16,7)/ 5 (83,3)/ 0	3 (50)/ 3 (50)/ 0
	HAP trake	3 (50)/ 3 (50)/ 0	2 (33,3)/ 4 (66,7)/ 0	3 (33,3)/ 4 (66,7)/ 0			
SBU_SE	HAP iglice	1 (16,7)/ 5 (83,3)/ 0	1 (16,7)/ 5 (83,3)/ 0	1 (16,7)/ 5 (83,3)/ 0	0/ 5 (83,3)/ 1	1 (16,7)/ 5 (83,3)/ 0	5 (83,3)/ 1 (16,7)/ 0
	HAP trake	0/ 6 (100)/ 0	2 (33,3)/ 4 (66,7)/ 0	1 (16,7)/ 5 (83,3)/ 0			
TeE	HAP iglice	6 (100)/ 0/ 0	4 (66,7)/ 2 (33,3)/ 0	6 (100)/ 0/ 0	5 (83,3)/ 1 (16,7)/ 0	5 (83,3)/ 1 (16,7)/ 0	6 (100)/ 0/ 0
	HAP trake	4 (66,7)/ 2 (33,3)/ 0	6 (100)/ 0/ 0	5 (83,3)/ 1 (16,7)/ 0			

Na Slici 41. su prikazane SEM mikrografije zuba restaurisanih upotrebom: (a) *SBU_TE*, (b) *SBU_SE* i (c) *TeE* adheziva sa HAP puniocima. Nije primećena razlika u debljini adhezivnog sloja između grupa sa različitim udelom HAP punilaca. Uočene razlike u rezultatima mogu biti posledica tipa adheziva ili protokola njihove aplikacije. U grupama *SBU_TE* i *TeE* uočeno je veće prisustvo smolastih produžetaka i deblji hibridni sloj u poređenju sa *SBU_SE* grupom. Češće prisutni polomljeni smolasti produžeci u *SBU_SE* grupi ukazuju na njihovu povećanu lomljivost u poređenju sa debljim i otpornijim produžecima formiranim u *SBU_TE* i *TeE* grupama.



3.3. Inerti

Graifkon 10 prikazuje rezultate ispitivanja jačine veze HAP inserata i restaurativnih materijala. Objašnjenje testiranih grupa dato je u Tabeli 10, str 73. Grupa Z250_SBU_TE je pokazala najjaču vezu sa HAP insertima u poređenju sa drugim grupama ($p < 0,05$) izuzev sa grupom *Tečni_SBU_TE*, gde razlika nije bila značajna ($p > 0,05$). Adheziv primenjen po 'total-etch' protokolu, značajno je pojačao vezu sa HAP insertom kako za Z250 tako i za tečni kompozit u poređenju sa 'self-etch' protokolom ($p < 0,05$). Z250 i Tečni kompozit direktno aplikovani na HAP-inserate bez korišćenja adheziva ostvarili su jačinu veze ispod 2 MPa. Ista slova na grafikonu, iznad stubića ukazuju da nema statistički značajne razlike među grupama.



Graifkon 10. Jačina veze HAP inserata i restaurativnih materijala

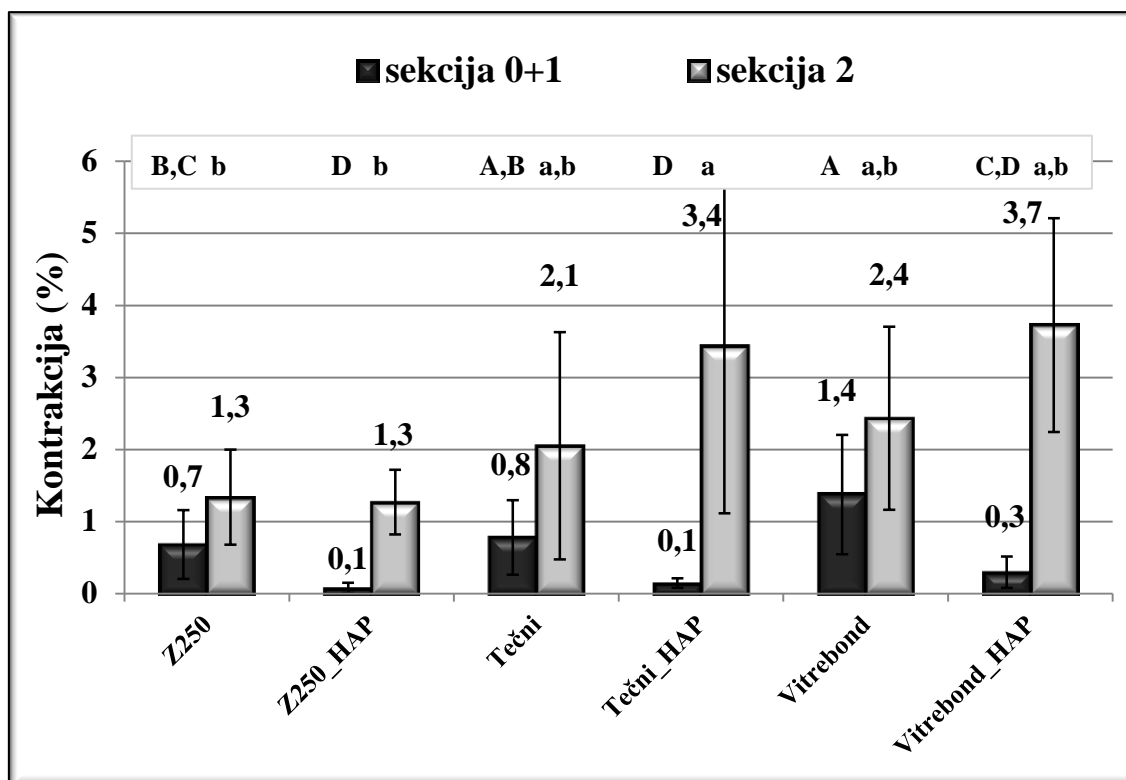
Tabela 12 prikazuje tipove loma nakon ispitivanja jačine veze restaurativnih materijala za HAP inserte testom smicanja. Kod svih uzoraka iz grupa *Vitrebond*, *Z250* i *Tečni* uočen je adhezivni tip loma, dok je *Z250_SBU_TE* grupa pokazala samo mešoviti tip loma. U preostalim grupama registrovan je podjednak broj adhezivnih i mešovitih lomova.

Tabela 12. Tip loma između HAP inserata i restaurativnih materijala

Grupa	Tip loma			Gubitak veze pre testa
	Adhezivni	Kohezivni	Mešoviti	
Z250_SBU_TE	0	0	5	0
Tečni_SBU_TE	2	0	3	0
Z250_SBU_SE	2	0	3	0
Tečni_SBU_SE	3	0	2	0
Vitrebond	5	0	0	0
Z250	5	0	0	0
Tečni	5	0	0	0

Upotreba HAP inserata značajno je smanjila zapreminsku kontrakciju restauracija izraženu von Mises deformacijom u sekcijama 0 i 1, u svim grupama u poređenju sa odgovarajućim kontrolama bez HAP inserata ($p < 0,05$) (Grafikon 11). Kontrakcija za sekcije 0 i 1 nije se razlikovala u grupama sa HAP insertima bez obzira na restaurativni materijal ($p > 0,05$). Periferno, u sekciji 2, kontrakcija je bila značajno viša u grupi *Tečni_HAP* ($3,4 \pm 2,3\%$) i *Vitrebond_HAP* ($3,7 \pm 1,5\%$) nego u grupi *Z250_HAP* ($1,3 \pm 0,4\%$) ($p < 0,05$). Nije utvrđena statistički značajna razlika u zapreminskoj kontrakciji za sekciju 2 između grupa sa HAP insertima i odgovarajućih

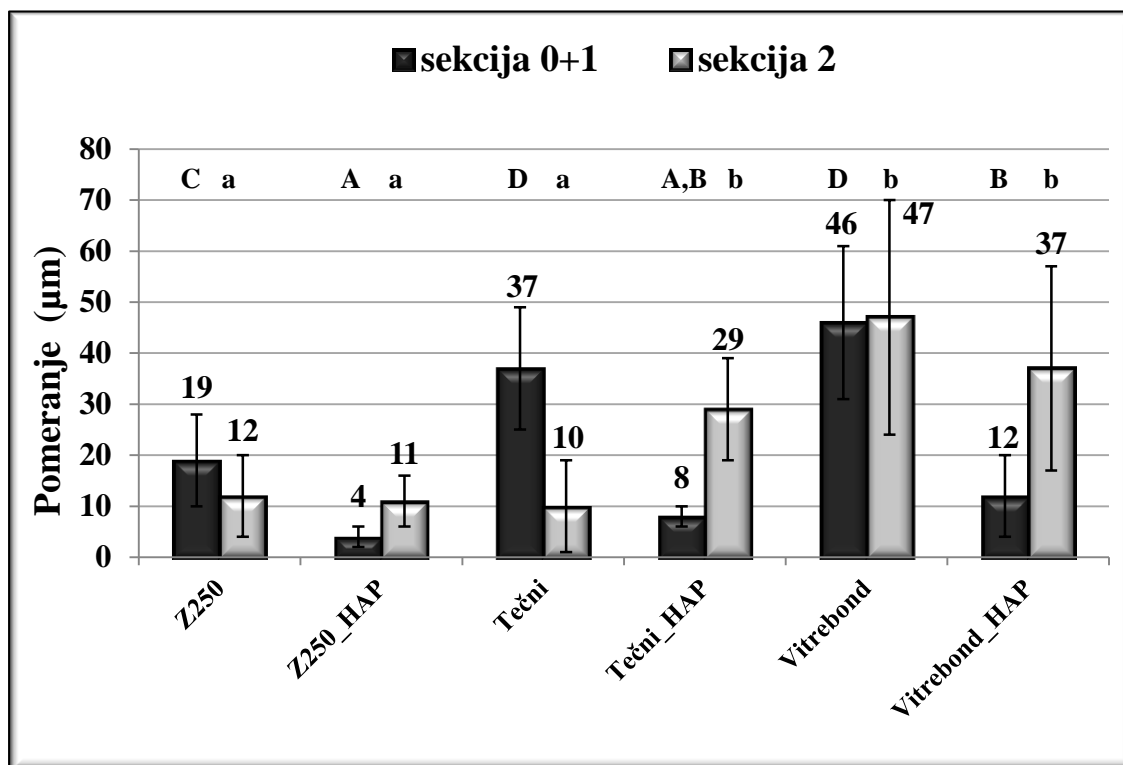
kontrolnih grupa bez HAP inserata ($p > 0,05$). Ipak, srednja vrednost u grupama *Tečni* ($2,1 \pm 1,6\%$) i *Vitrebond* ($2,4 \pm 1,3\%$) je bila niža nego u grupama *Tečni_HAP* i *Vitrebond_HAP*, ali bez statističke značajnosti ($p > 0,05$). Ista velika slova iznad stubića ukazuju da nema statistički značajne razlike u kontrakciji među testiranim grupama za sekcije 0 i 1, dok ista mala slova iznad stubića ukazuju da nema statistički značajne razlike u kontrakciji među grupama za sekciju 2.



Grafikon 11. Procenat kontrakcije restauracija se i bez HAP inserata

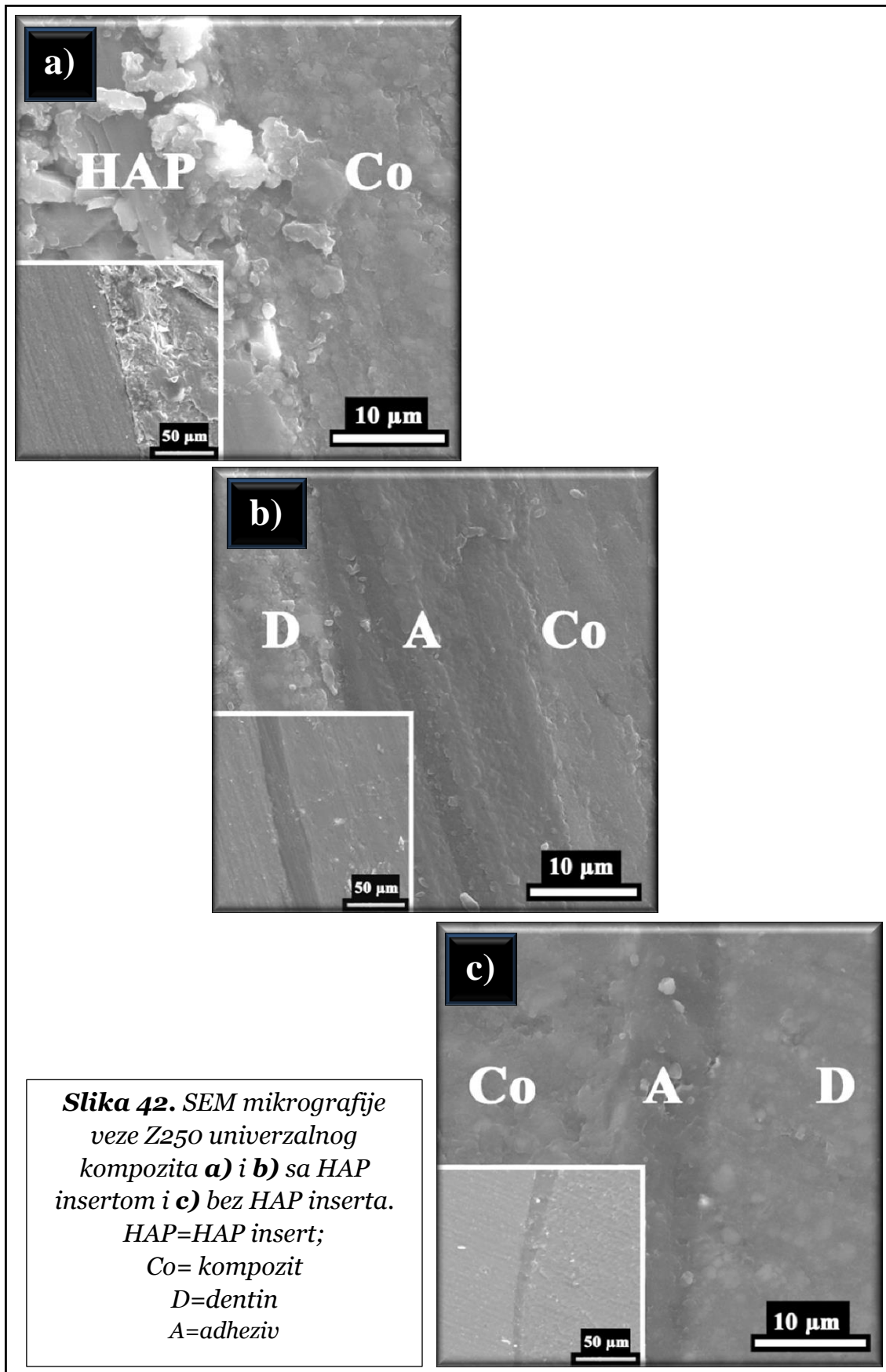
HAP inserti su značajno smanjili pomeranje materijala u sekcijama 0 i 1, u svim grupama, u poređenju sa grupama bez inserata ($p < 0,05$) (Grafikon 12). Pomeranje materijala u ovim sekcijama odgovara pomeranju centralnih delova uzorka i značajno je niže za grupu *Z250_HAP* ($4 \pm 1 \mu\text{m}$) nego u svim ostalim grupama ($p < 0,05$), izuzev za grupu *Tečni_HAP* gde razlika nije značajna ($p > 0,05$). Periferno pomeranje (sekcija 2) je bilo slično sa i bez HAP inserata u grupama *Z250* i *Vitrebond* ($p > 0,05$), dok je kod tečnog kompozita HAP insert uzrokovao značajno povećanje pomeranja u z-osi ($p < 0,05$). Vektor pomeranja se u ovoj grupi promenio iz xy ravni u dominantno pomeranje duž z-ose u grupi *Tečni_HAP*. Ovi rezultati ukazuju da je u grupi sa HAP

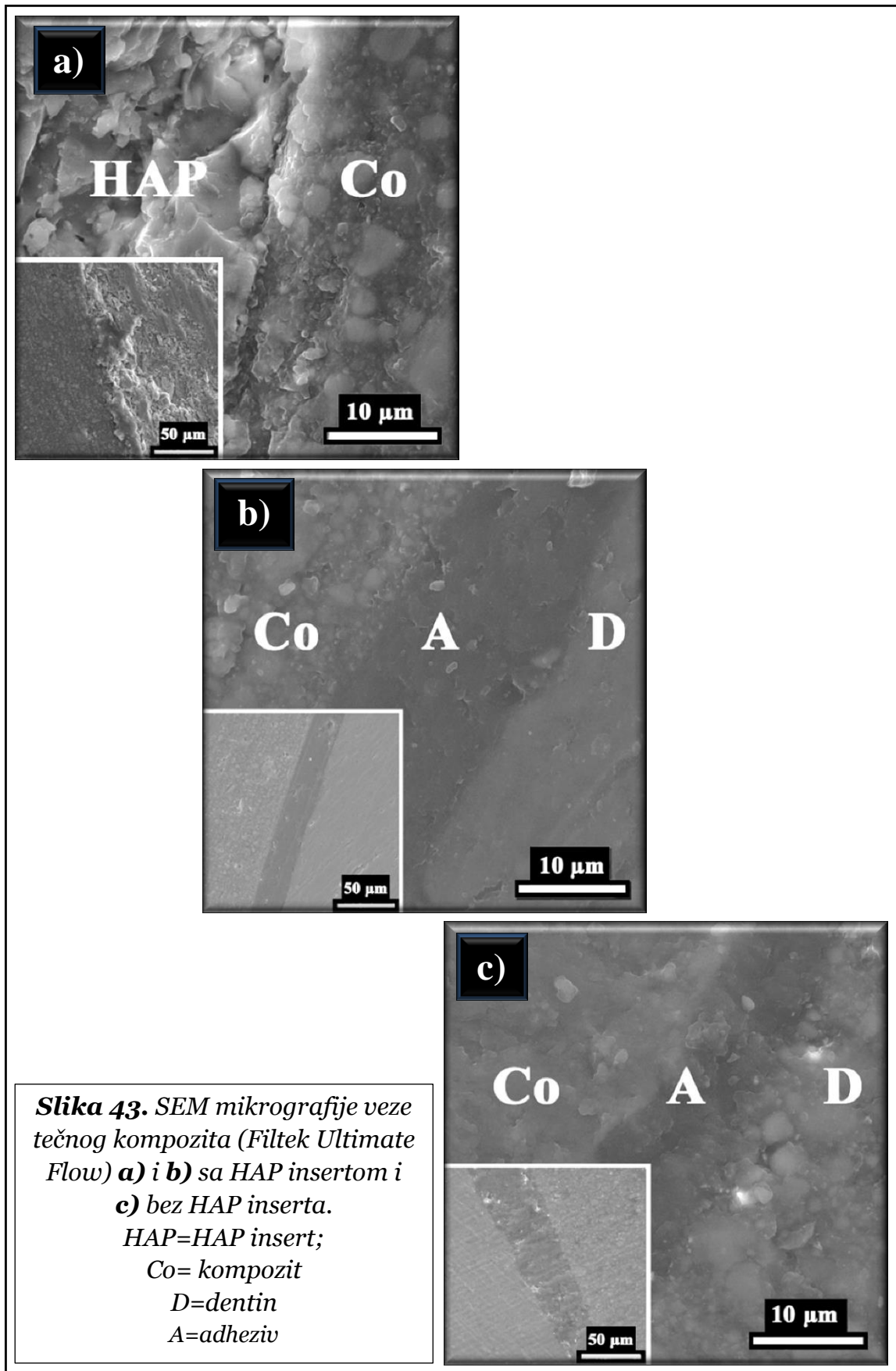
insertima došlo do pomeranja ka centru mase restaurativnog materijala, suprotno horizontalnom pomeranju koje je uočeno na površini materijala usled vuče naspramnih zidova u grupi bez HAP inserata. Ista velika slova iznad stubića ukazuju da nema statistički značajne razlike u pomeranju među testiranim grupama za sekcije 0 i 1, dok ista mala slova iznad stubića ukazuju da nema statistički značajne razlike u pomeranju među grupama za sekciju 2.

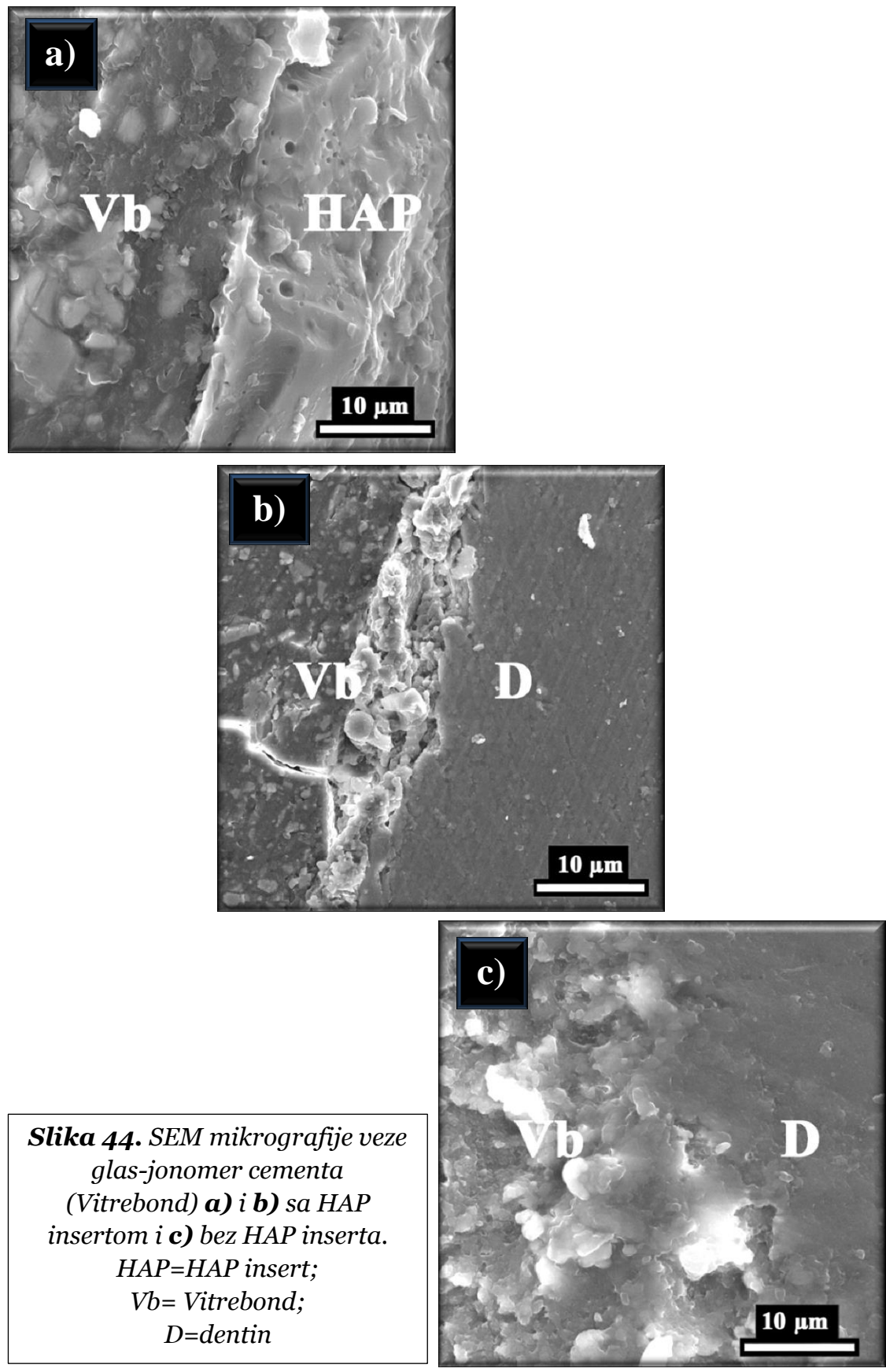


Grafikon 12. Pomeranje materijala (µm) kod restauracija sa i bez HAP inserata

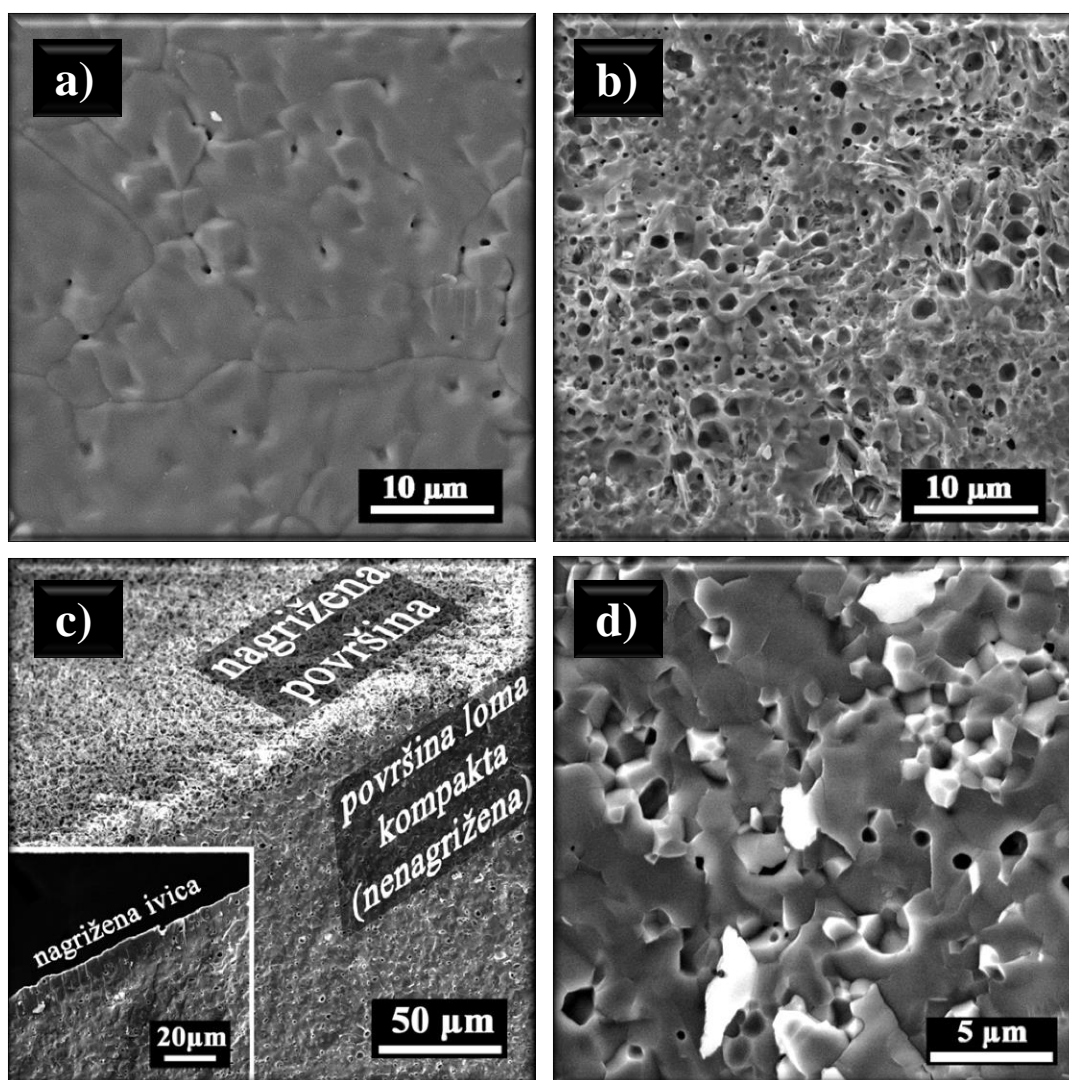
SEM analizom presečenih dentinskih diskova resturisanih sa i bez postavljanja HAP inserata (Slike 41-43) uočeno je da se uspostavlja intiman kontakt između razmatranih supstrata, bez formiranja zjapova. Dentalni adheziv je ostvario intimnu vezu sa dentinom i kompozitom, obrazujući sloj debljine 5-15 µm. Primena HAP inserta nije uzrokovala stvaranje zjapova na spojevima materijala sa dentinom i sami inserti su ostvarivali dobru vezu sa materijalima. Površina HAP inserta nastala sečenjem bila je neravna, nalik onoj koju ima Vitrebond, što ukazuje da je usled sečenja na mikro nivou dolazilo do odlamanja sitnih blokova HAP-a usled njegove krтости. Mestimično se uočavaju otvorene pore u unutrašnjosti inserta.







SEM mikrografije površine HAP inserta pre i posle nagrizanja 37% fosfornom kiselinom u trajanju od 15 s prikazane su na Slici 45a, b, c. Uočava se da kiselina izraženo deluje na otvaranje i širenje pora inserta, kao i da je takvo dejstvo samo površinsko. Slika 45d, prikazuje izgled površine HAP inserta nakon dejstva samonagrizajućih monomera. Uočava se da i u ovom slučaju dolazi do otvaranja pora i povećanja hrapavosti površine, ali u manjoj meri nego nakon dejstva 37% fosforne kiseline.



Slika 45. SEM mikrografije površine HAP inserata **a)** pre i **b)** posle nagrizanja 37% fosfornom kiselinom u trajanju 15 s; **c)** uporedni prikaz nagrižene površine inserta i nenagrižene površine dobijene lomljenjem inserta, pri čemu je na manjoj slici nagrižena strana ustvari nagrižena ivica; **d)** izgled površine HAP inserta nakon dejstva samonagrizajućih monomera, korišćenog u testiranju jačine veze smicanjem (Z250_SBU_SE grupe), sa ostacima materijala u porama

4. DISKUSIJA

4.1. Eksperimentalni kompoziti sa HAP puniocima

Obe nulte hipoteze su odbačene, pošto su dodatak HAP-a i 'starenje' u Henkovom rastvoru značajno uticali na mehanička svojstva kompozita.

Za testiranje, 10 mas% konvencionalnih staklenih punilaca zamenjeno je istom masom HAP punilaca. Svi tipovi HAP-a su korišćeni u istom masenom udelu kako bi se obezbedila uporedivost izmerenih vrednosti između svih grupa. Pošto je organska komponenta kompozita bila ista u svim grupama, uočene razlike u mehaničkim svojstvima mogu se pripisati HAP puniocima, međusobno različitim po veličini, obliku, površinskoj teksturi i prisustvu SiO₂ grupa na površini.

Stepen konverzije i tvrdoća po Vickersu mereni su na neprosvetljavanoj strani uzoraka kako bi se ustanovila svojstva materijala na potencijalno najslabije polimerizovanom delu uzoraka, a koji je opet na klinički preporučenoj razdaljini od svetlosnog izvora za polimerizaciju (2 mm). U našoj studiji korišćeni su nesilanizirani HAP punioci kako bi se ispitaio uticaj čistog HAP-a na mehanička svojstva dentalnih kompozita.

Mehanička svojstva dentalnih kompozita zavise od mnogih faktora, poput unutrašnjih svojstava punilaca i njihovog udela (Hosseinalipour et al., 2010), jačine vezivanja punilaca za organsku komponentu (Debnath et al., 2004, Sideridou and Karabela, 2009), kvaliteta dispergovanosti punilaca u organskom matriksu (Noohom et al., 2009), svojstava samih smola (Asmussen and Peutzfeldt, 1998) i stepena njihove konverzije tokom polimerizacije (Lin-Gibson et al., 2009, Pfeifer et al., 2009). Pokazalo se da udeo punilaca ima najveći uticaj na mehanička svojstva kompozita (Ilie and Hickel, 2009a), pa se stoga može očekivati da se čak i male izmene u dodatim puniocima mogu odraziti na mehanička svojstva kompozita. Uticaj punilaca na mehanička svojstva kompozita je pokazan i u ovoj studiji, gde je zamena samo sa 10

mas% konvencionalnih punilaca HAP česticama imala značajnog uticaja na ispitivana svojstva kao i na izmene u otpornosti materijala posle 'starenja'.

U prethodnim studijama ispitivana je tvrdoća smola koje su sadržale isključivo HAP punioce (Domingo et al., 2001, Labella et al., 1994, Zhang and Darvell, 2012) i uočen je porast tvrdoće sa porastom udela dodatog HAP-a u odnosu na svojstva smole bez punilaca. Organske smeše sa HAP puniocima iz ovih studija pokazale su se tvrdim od nepunjenih smola, što je svakako i očekivano. Zamena konvencionalnih punilaca HAP česticama u našoj studiji je uzrokovala pad tvrdoće osim u *Sf* grupi. Ovakav nalaz govori o inferiornim svojstvima HAP-a, pre svega u pogledu tvrdoće, u odnosu na konvencionalne staklene punioce.

Zamena 10 mas% konvencionalnih punilaca HAP puniocima (*Sf*, *Sf_{Si}*, *Tr*, *Tr_{Si}*) osetno je povećala otpornost na savijanje (Fs) eksperimentalnih kompozita u odnosu na kontrolnu grupu. Uticaj HAP traka na Fs je u skladu sa rezultatima prethodnih studija bez obzira na razlike u dimenzijama i odnosu dužine i širine (aspect ratio) HAP traka. Chen i saradnici (Chen et al., 2011) su koristili trake dužine 60-80 μm sa odnosom dužine i širine 600-800 i dobili povećanje od skoro 30% u otpornosti na biaksijalno savijanje posle zamene 3 mas% staklenih punilaca HAP-om u kompozitima sa ukupnim udeom punilaca od 60 mas%, kao i porast od 22% nakon dodatka 10 mas% HAP traka u nepunjene smole. Zhang i Darvel (Zhang and Darvell, 2012) su koristili trake dužine 116 μm sa odnosom dužine prema širini 103 i nisu pronašli povećanje Fs nakon dodatka 4-22 vol% HAP traka u nepunjene smole. Zhang-ova studija se razlikovala od naše studije u pogledu veličine traka i njihovog odnosa dužine i širine kao i u sastavu kompozita, protokolu polimerizacije, tako da razlike u izmerenim vrednostima mogu biti pripisane razlikama u ekperimentalnoj postavci. Transverzalni način loma nakon testa savijanja u tri tačke je prikazan kao jedini način loma u pomenutim studijama (Chen et al., 2011, Zhang and Darvell, 2012). U našoj studiji trake su bile šire, sa manjim odnosom dužine i širine (oko 20), što je verovatno dovelo do razlika u propagaciji frakturne linije i rezultiralo novim tipovima loma HAP traka koje nisu uočene u prethodnim studijama.

Slično trakama, HAP sfere su takođe značajno povećale Fs. Njihova specifična građa sa primarnim česticama aglomerisanim u organizovan, pravilan sferni oblik, sa

perpendikularnim rasporedom oko centralne šupljine, doprinosi povećanju otpornosti na savijanje. Ovakva konstrukcija sfere čini da one budu podjednako otporne na sile iz kojeg god pravca da deluju. Centralna šupljina omogućuje da se dejstvo sile delimično kompenzuje pre i/ili posle loma same sfere. Ovo zapažanje je potvrđeno analizom SEM mikrografija frakturiranih uzoraka posle testa savijanja, na kojima se uočava da frakturna linija često uključuje centralnu šupljinu HAP sfere. Ovo takođe navodi na zaključak da je veza sfera sa smolastim matriksom jača od unutrašnje koherentnosti i otpornosti na lom HAP sfere, odnosno od jačine povezanosti primarnih čestica u samoj sferi. Osim toga, površina sfere je hrapava, posebno u poređenju sa staklenim puniocima što sfere čini retentivnijim, odnosno bolje mikromehanički povezanim sa matriksom. Uprkos razlikama u obliku HAP punilaca iz naše i studije Santos-a i saradnika (Santos et al., 2001), HAP punioci pokazuju tendenciju povećanja F_s dentalnim kompozitima.

Uniforman način loma HAP sfera čini da ovaj oblik HAP punilaca ima predvidivo ponašanje u toku propagacije prsline, za razliku od HAP traka koje su pokazale tri načina loma. Fraktura HAP traka je nepredvidiva i zavisi od orijentisanosti samih traka u odnosu na pravac širenja prsline. Učestaliji transverzalni tip loma u odnosu na transverzalnu delaminaciju ili mešoviti tip loma ukazuje da krtost HAP traka prevazilazi njihovu žilavost. HAP trake predstavljaju jedinstvenu strukturu - jedinstvenu kristalnu rešetku za razliku od HAP sfera koje su ustvari aglomerati. Osim toga, zbog odnosa dužine i širine traka i odsustva mikroretentivnih struktura na površini, HAP trake su pasivno inkorporirane u smolasti matriks. Imajući to u vidu, najveća zastupljenost transverzalnih fraktura HAP traka je donekle očekivan nalaz. Potapanje u Henkov rastvor tokom 4 nedelje dodatno povećava njihovu krtost jer su transverzalne frakture traka postale još zastupljenije, što je smanjilo ukupnu otpornost kompozita na savijanje sa ovim tipom HAP punilaca.

Nano-HAP usled velike ukupne površine čestica, tj. veće površinske energije u odnosu na istu masu ili zapreminu krupnijih čestica, imaju tendenciju stvaranja aglomerata. Rezultati za kompozite za grupu *Nano* su najverovatnije posledica aglomeracije i ne mogu se razmatrati kao kompoziti sa dodatim nano-česticama. Kombinovanje HAP čestica različitih veličina i oblika u budućim istraživanjima zahteva

prethodno razvoj metode za optimizaciju distribucije nano-punilaca u eksperimentalnim kompozitima.

Prethodne studije ispitivale su uticaj potapanja uzoraka u različite medijume, na mehanička svojstva kompozita i otpuštanje punilaca (Ferracane et al., 1998, Ilie and Hickel, 2009b, Soderholm et al., 1996). Izlaganje kompozita vodi uzrokovalo je degradaciju čestica punilaca (Soderholm et al., 1996), slabljenje polimernog matriksa (Ferracane et al., 1998), gubitak veze između punilaca i matriksa (Shah et al., 2009) i/ili hidrolitičku degradaciju smola (Santerre, 2001). Henkov rastvor je izabran kao medijum za ‘starenje’ uzoraka umesto vode u ovoj studiji zbog izbalansiranog udela elektrolita kakav je prisutan i u *in vivo* okruženju, pa su isključene mogućnosti osmotske razmene elektrolita koje se ne bi i realno mogle dešavati u kliničkom okruženju. Henkov rastvor održava pH i osmotski pritisak obezbeđujući vodu i elektrolite za eventualnu interakciju sa potopljenim materijalima.

Kompoziti sa HAP puniocima pokazali su razlike u mehaničkim svojstvima posle potapanja. Generalno, grupe sa sferama su imale bolja mehanička svojstva posle potapanja u Henkov rastvor nego grupe sa trakama, odnosno kod kompozita sa HAP sferama je zabeležen porast tvrdoće i oba ispitivana modula elastičnosti (savojni i kompresivni). Ovo se moglo i pretpostaviti, jer voda i minerali iz Henkovog rastvora imaju tendenciju da popunjavaju međučestične prostore, kao i centralne šupljine sfera, čineći ih tako rigidnijim. Kod kompozita sa HAP trakama izostaje ovakav efekat rastvora usled nedostatka primarnih čestica i prostora između njih. Kompoziti sa HAP sferama su posle ‘starenja’ pokazale slične ili bolje karakteristike nego kontrolni kompozit bez HAP punilaca, čak i u odnosu na mehanička svojstva kontrolnog kompozita pre ‘starenja’. Zbog navedenoga opravdan je dalji razvoj HAP punilaca u svrhu optimizacije restaurativnih materijala.

4.2. Adhezivi sa dodatkom nano-HAP suspenzija

Nulta hipoteza je odbačena, obzirom da je utvrđena značajna razlika u jačini veze za dentin adheziva nakon dodatka nano-HAP iglicama i nano-HAP trakama.

Adhezivi sa dodatim različitim udelima HAP punilaca takođe su se međusobno razlikovali.

Merenje jačine veze adheziva i dentina putem istežanja ili smicanja su osnovni načini da se ispita novi adheziv, pri čemu se pomenuti testovi u svojim mikro varijantama češće primenjuju (De Munck et al., 2012). Vrednosti dobijene mikro testovima su približno dvostruko više u odnosu na vrednosti dobijene makro testovima, tako da apsolutne vrednosti ne treba porediti (Van Meerbeek et al., 2010a). U ovoj studiji, makro testiranje je korišćeno kako bi se minimalizovao negativan uticaj malih defekata na adhezivnom spoju, koji manje dolaze do izražaja ako je površina vezivanja veća. Osim toga, neuspesi pre samog testiranja i manipulativne greške su smanjene, jer je metoda manje osetljiva. Uzorci se ne fiksiraju lepkovima, već se mehanički fiksiraju u odgovarajuće držače, pa i to dodatno smanjuje mogućnost greške, kontaminacije i obezbeđuje standardizaciju i ponovljivost merenja.

Nano-HAP punioci su nakon sinteze zadržani u medijumu u kom su sintetisani (dominantno voda), u cilju prevencije aglomeracije koja se najviše očekuje pri isušivanju, kao i u cilju lakšeg dodavanja i umešavanja u adheziv. Dva komercijalna adheziva na bazi BisGMA/HEMA-e su odabrana i to novi, univerzalni adheziv Single Bond Universal (SBU), kao adheziv sa funkcionalnim monomerima, koji može biti primenjen po 'total-etch' ili 'self-etch' protokolu i TeEconom Bond (TeE) kao predstavnik ekonomske klase 'total-etch' adheziva. Pošto su HAP punioci dodati u adheziv u obliku vodene suspenzije testiran je i uticaj dodatka same vode u adhezive, u udelima odgovarajućim onima sa dodatkom suspenzije. Primećeno je opadanje jačine veze povećanjem udela vode sa 2,6 mas% na 5,3 mas% kod oba adheziva. Zbog uočenog trenda, kao i zbog poznatog negativnog efekta vode na polimerizaciju adheziva (Wang et al., 2006), treća negativna kontrolna grupa, sa 7,9 mas% vode, nije ni testirana. Voda se ne može smatrati zaslužnom za porast jačine veze u grupama sa HAP puniocima gde je došlo do njenog porasta (1,0 mas% - SBU_TE i 0,5 mas% -TeE), obzirom da dodatak samo vode u istim količinama nije imalo isti efekat. Ovi nalazi potvrđuju pozitivan uticaj nano-HAP punilaca na jačinu vezivanja adheziva sa dentinom.

Nalaz u ovoj studiji, da dodatak vode u SBU_SE grupi slabi vezu sa dentinom slaže se sa nalazom prethodne studije Miletić i saradnika (Miletic et al., 2013), gde je uočena slabija polimerizacija u adhezivnom sloju komercijalnog Single Bond Universal adheziva nakon 'self-etch' protokola, u poređenju sa 'total-etch' protokolom. Kao objašnjenje navodi se ograničena demineralizacija dentina usled dejstva ultra-blagog monomera iz ovog adheziva, zbog čega zaostaje veća količina vode u adhezivnom sloju, za koju je poznato da remeti polimerizaciju (Wang et al., 2006, Zhang and Wang, 2012c). Sa druge strane, SBU_SE je ostvario jaču vezu sa dentinom nego SBU_TE, što je suprotno nalazima prethodne studije (Miletic et al., 2013), koji su dobili jaču vezu mikroistezanjem kod SBU_TE nego kod SBU_SE grupe. Ove razlike u nalazu mogu se pripisati razlikama u eksperimentalnoj postavci, odnosno poređenju rezultata makrosmicanja, u slučaju ove studije, sa rezultatima mikroistezanja, u slučaju pomenute studije, gde se regionalne razlike uočene na 'mikro' nivou, ne dolaze nužno do izražaja u rezultatima dobijenim na 'makro' nivou.

Nekoliko prethodnih studija je ispitivalo uticaj HAP punilaca na jačinu veze sa dentinom putem mikroistezanja (Wagner et al., 2013, Leitune et al., 2013) ili mikrosmicanja (Sadat-Shojai et al., 2010). Wagner i saradnici (Wagner et al., 2013) su uočili jaču vezu sa dentinom Adper Scotchbond Multi-Purpose (3M ESPE) adheziva nakon dodatka 1 i 5 mas% HAP nano-štapića dužine 20 i 70 nm. Slično tome, Leitune i saradnici (Leitune et al., 2013) su našli porast jačine veze za dentin, testirane mikroistezanjem, eksperimentalnih adheziva sa dodatkom 2 mas% HAP-a, u formi aglomerata veličine 1-10 μm .

Za razliku od ovih studija, Sadat-Shojai i saradnici (Sadat-Shojai et al., 2010) su izmerili najviše vrednosti jačine veze mikrosmicanjem posle dodatka najmanjeg udela HAP nano-štapića, od 0,2 mas%, u eksperimentalni adheziv. Ostale dodavane koncentracije bile su 0,5, 1, 2 i 5 mas%, a kao kontrola testiran je i komercijalni Adper Single Bond2 (3M ESPE). Vrednosti iz ove studije govore da tip i udeo HAP punilaca koji obezbeđuju najjaču vezu sa dentinom zavise od tipa adheziva u koji se dodaju kao i od primenjenog protokola njegove aplikacije. Najviše vrednosti jačine veze su postignute sa (1) nižim koncentracijama HAP punilaca bez obzira na njegov tip kada je u pitanju TeE adheziv; (2) niskim ili srednjim koncentracijama HAP-traka u SBU_TE

adhezivu i (3) HAP-iglica bez obzira na koncentraciju u SBU_SE adhezivu. Nedostatak nekog određenog trenda govori u prilog teze da generalno oba tipa nano-HAP-a mogu biti upotrebljena kao punioci u dentalnim adhezivima u cilju pojačanja veze za dentin, pri čemu blagu prednost treba dati HAP-trakama. Sa druge strane, niže koncentracije HAP-a su poželjnije od viših koncentracija kada se razmatraju 'total-etch' adhezivi.

U ovoj studiji vrednosti jačine veze za testirane komercijalne adhezive bile su u opsegu 15 MPa za SBU_SE do 8 MPa za TeE. Iako tip testa (makrosmicanje) može uzrokovati znatne promene u rezultatima za isti adheziv (De Munck et al., 2012, Leloup et al., 2001), prikazane vrednosti su slične onima dobijenim testom mikrosmicanja kod samonagrizajućeg Adper Single Bond2 iz studije Sadat-Shojai i saradnika (Sadat-Shojai et al., 2010).

Tip loma nije bio pod uticajem tipa dodatog HAP-a, ali jeste bio u vezi sa jačinom ostvarene veze, odnosno uzorci sa jačom vezom pucali su po mešovitom tipu loma. Ovi rezultati se slažu sa uopštenim pravilom da adhezivi sa slabijim vezivanjem za dentin pucaju učestalije po adhezivnom tipu loma. S druge strane, lom koji zadire u kompozit ili dentin, bilo mešoviti ili kohezivni, dešava se pri većim silama, odnosno kad jačina veze sa dentinom prevazilazi otpornost kompozita ili dentina (Leloup et al., 2001, Scherrer et al., 2010).

Na SEM mikrografijama se može uočiti da HAP nije uticao na debljinu hibridnog sloja niti formiranje smolastih produžetaka u dentinskim kanalićima, već su ove karakteristike adheziva zavisile od protokola aplikacije adheziva. Deblji smolasti produžeci sa lateralnim granama mogli su se videti kod adheziva primenjenih sa tehnikom totalnog nagrizanja (TeE i SBU_TE), bez uticaja tipa i koncentracije HAP punilaca. U SBU_SE grupi mogao se uočiti manji broj, često polomljenih smolastih produžetaka. Ovaj nalaz se može objasniti manjim promerom ulaza u dentinske kanaliće posle manje agresivnog 'self-etch' u odnosu na 'total-etch' protokol, usled čega su tanji smolasti produžeci bili skloniji lomljenju. Dobijene SEM mikrografije slične su slikama iz mnogobrojnih prethodnih studija sa opisanim razlikama između totalnog nagrizanja i samonagrizanja (Miletic, 2010, Santini and Miletic, 2008, Ferrari et al., 1996, Abdalla and Feilzer, 2007). Iz navedenog, može se zaključiti da tip nano-HAP punilaca ne utiče

na distribuciju aplikovanog adheziva na dentinskoj površini, kao ni na njegovu sposobnost infiltracije dentinskih kanalića.

4.3. HAP inserti

Testirane nulte hipoteze su odbačene obzirom da su pronađene značajne razlike u jačini veze različitih materijala za HAP inserte, kao i značajne razlike u zapreminskoj kontrakciji i pomernju materijala kod dentinskih diskova restaurisanih sa i bez HAP inserata.

Kiselinsko nagrizanje HAP inserata kao priprema za aplikaciju adheziva pojačalo je vezu sa insertom za 50% u Z250 grupi, odnosno za 100% u *Tečni* grupi, u odnosu na samonagrizajući protokol aplikacije. Jača veza sa insertom nakon protokola totalnog nagrizanja posledica je površinske demineralizacije inserta nalik onoj koja se odigrava na prirodnim zubnim tkivima usled dejstva fosforne kiseline, odnosno usled povećanja površinske hrapavosti i povećanja broja i veličine otvorenih pora nalik otvorenim dentinskim kanalićima. Mikromehanička retencija je dominantni mehanizam adhezije materijala za HAP inserte. Dodatna hemijska veza za HAP, već dokazana za Single Bond Universal adheziv kroz interakciju 10-MDP monomera i Ca^{++} iz HAP-a (Yoshida et al., 2012), može se smatrati sekundarnim načinom vezivanja. SEM analiza uzoraka adhezivno polomljenih nakon testa smicanja otkrila je da Single Bond Universal adheziv aplikovan po 'self-etch' protokolu na HAP insert takođe povećava njegovu površinsku hrapavost i otvara dodatne pore na njegovoj površini, ali u manjem stepenu nego što to čini fosforna kiselina (Slika 45d).

Može se zaključiti da interakcija funkcionalnih monomera sa HAP insertima postoji, ali da nije dovoljna da bi se dostigle vrednosti jačine veze koje se postižu protokolom totalnog nagrizanja. Vitrebond je ostvario najslabiju vezu sa HAP insertima, sa adhezivnim tipom loma kod svih uzoraka. Ovakav nalaz je očekivan na osnovu rezultata iz prethodnih studija, koje su pokazale da je vezivanje kompozitnih materijala za zubna tkiva mnogo efikasnije nego vezivanje glas-jonomer cemenata (Nujella et al., 2012, Imbery et al., 2013).

Sistem sa dve kamere korišćen u ovoj studiji, omogućio je trodimenzionalna merenja pomeranja i deformacije u toku polimerizacije, dakle kako u odnosu na površinsku ravan (xy) tako i u odnosu na dubinu materijala, odnosno duž z-ose. Sistemi sa jednom kamerom mogu da mere promene na površini materijala ('in-plane'), dok su promene van te ravni samo pretpostavke zasnovane na karakteristikama materijala (Li et al., 2009b). U postavci iz ove studije pomeranje duž z-ose može se egzaktno izmeriti i koristiti za proračun zapreminske kontrakcije. Osim toga upotreba humanog dentina na koji je nanet adheziv čini ovu studiju klinički relevantnijom od studija koje su koristile čelične, teflonske ili neke druge kalupe (Li et al., 2009a, Lee et al., 2012, Martinsen et al., 2013).

HAP inserti značajno redukuju količinu restaurativnog materijala koji se polimerizuje, pa prema tome i kontrahuje. U modelu iz ove studije, zapremina korišćenog restaurativnog materijala u grupama bez inserta bila je 30,4 mm³, gotovo trostruko veća nego u grupama koje su delom restaurisane HAP insertom - 11,3 mm³. Prikazani rezultati govore o nešto većem procentu kontrakcije tečnog kompozita i glasonomer cementa u grupama sa insertom, u odnosu na grupe bez inserta, mada uočene razlike nisu bile statistički značajne. Međutim, znatna razlika u količini korišćenog materijala koji podleže kontrakciji, čini da su čak i slične procentualne vrednosti kontrakcije različite sa aspekta apsolutne zapremine kontrahovanog materijala.

Zapreminska kontrakcija i površina vezivanja materijala i zubnih tkiva su faktori od kojih zavisi razvoj kontrakcionog napona odgovornog za narušavanje marginalnog integriteta adhezivnih restauracija (Braga et al., 2005). U ovoj studiji, kavitet cilindričnog oblika imao je dve ne-bondirane površine, jednu (donju) neophodnu za prosvetljavanje polimerizacionom lampom i drugu (gornju), neophodnu za bojenje, fotografisanje i praćenje pomeranja stohastične šare. 'C' faktor, odnos vezanih i slobodnih površina (Feilzer et al., 1987), za uzorke korišćene u ovoj studiji, sa i bez HAP inserta, kao i paralela sa odgovarajućim kliničkim situacijama gde bi bilo prisutno dno kaviteta, dakle kao klinička klasa I kaviteta, može se izračunati iz Formula (2)-(5):

$$'C' \text{ faktor bez inserta, eksperimentalni slučaj} = \frac{2r_1 \pi h}{2r_1^2 \pi} = \frac{h}{r_1} = 0,64$$

Formula (2),

$$'C' \text{ faktor sa insertom, eksperimentalni slučaj} = \frac{2r_1 \pi h}{2r_2 \pi h + 2(r_1^2 \pi - r_2^2 \pi)} = 0,73$$

Formula (3),

$$'C' \text{ faktor bez inserta, klinički slučaj} = \frac{2r_1 \pi h + r_1^2 \pi}{r_1^2 \pi} = 2,28$$

Formula (4),

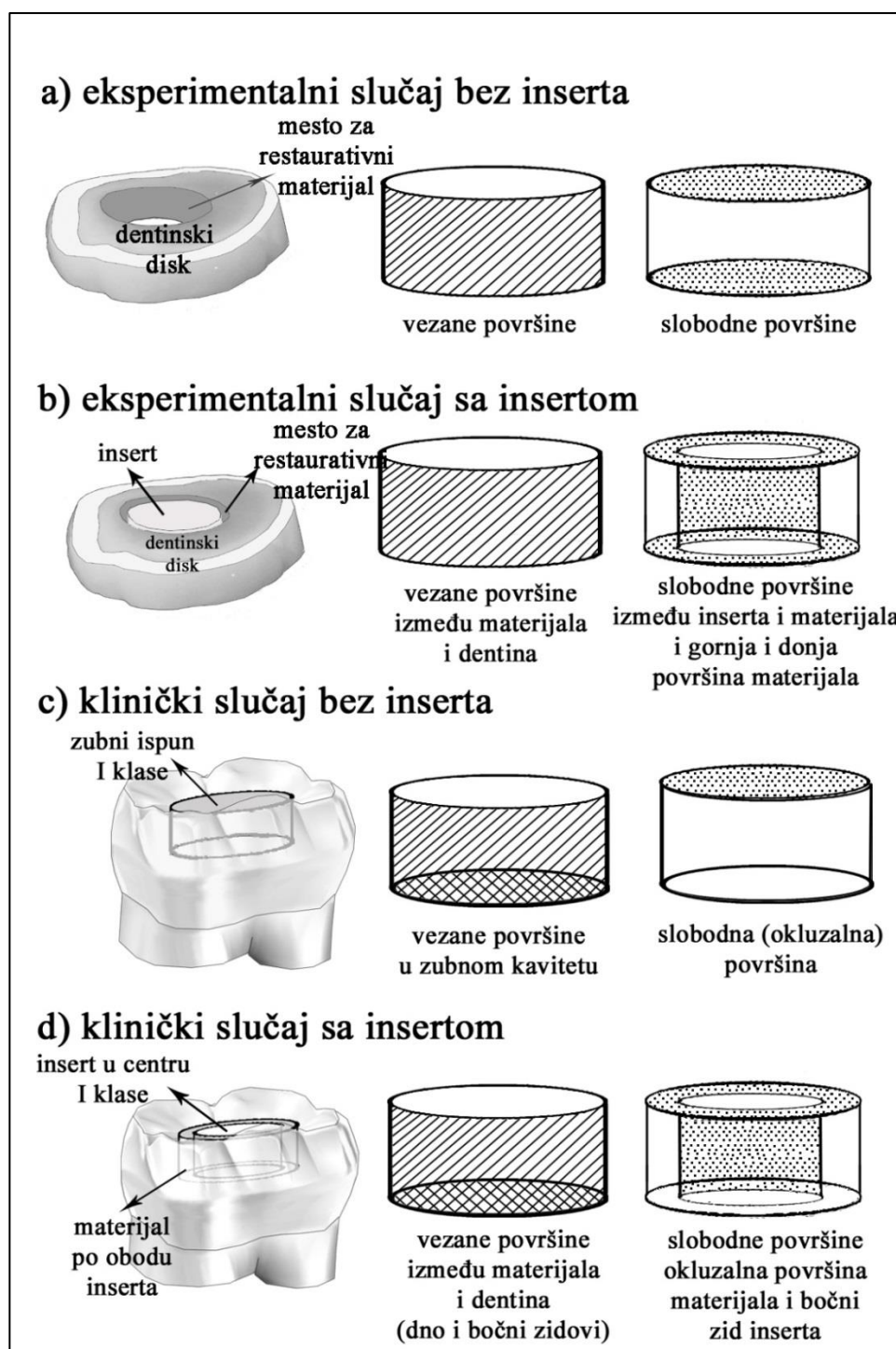
$$'C' \text{ faktora sa insertom, klinički slučaj} = \frac{2r_1 \pi h + r_1^2 \pi}{2r_2 \pi h + (r_1^2 \pi - r_2^2 \pi)} = 1,65$$

Formula (5),

gde r_1 označava poluprečnik kaviteta u dentinskom disku, odnosno u zubu (2,5 mm), r_2 označava poluprečnik HAP inserta (2 mm) i h označava visinu uzorka, odnosno dubinu kaviteta (1,6 mm). Slika 46 šematski prikazuje vezane (bondirane) i slobodne površine korišćene za računanje 'C' faktora u eksperimentalnom slučaju korišćenom u ovoj studiji, kao i u kliničkom slučaju koji bi odgovarao eksperimentalnom da zbog specifičnosti postavke za merenje polimerizacione deformacije i pomeranja nije morala biti slobodna donja površina restauracije (za prilaz polimerizacione lampe). Veći 'C' faktor znači veću vuču vezanih površina i potencijalno veći kontrakcioni napon u materijalu. U kliničkoj praksi, 'C' faktor je najnepovoljniji kod I klase kaviteta, gde je i najpogodnija primena inserata, dok kod II i naročito IV klase kaviteta postaje sve povoljniji (odnosno manji).

HAP inserti primetno redukuju 'C' faktor u kliničkim slučajevima I klase kaviteta, ukazujući na potencijal inserta da na taj način smanji kontrakcioni napon uzrokovan kontrakcijom materijala i vučom vezanih površina. Petrović i saradnici su pokazali da centralni kočić umetnut u kompozitni materijal redukuje kontrakcioni napon tako što povećava nevezane površine, utičući pozitivno na marginalnu adaptaciju takvih restauracija (Petrovic et al., 2010). Autori predlažu korišćenje većeg kočića (pina) za dodatno smanjenje napona, usled smanjenja količine polimerizujućeg materijala, kao i usled porasta nevezanih površina (Petrovic et al., 2010). Upotrebom netretiranih HAP inserata u ovoj studiji za merenje deformacija i pomeranja, vezane površine su svedene na bočne zidove dentinskog diska (Slika 46b), dok bi u kliničkom slučaju to bio i deo dna kaviteta (Slika 46d). U kliničkom slučaju I klase kaviteta, sa HAP insertom, tečenje materijala u toku polimerizacije, odvijalo bi se ka bondiranim površinama, odnosno bočnim zidovima tako smanjujući napon u materijalu. Spoj materijala i HAP inserta bez

mikropukotine govori u prilog pretpostavke da HAP inserti smanjuju kontrakciju i formiranje mikropukotine.



Slika 46. Šematski prikaz površina korišćenih za računanje 'C' faktora sa i bez inserata. a i b) Eksperimentalni slučajevi korišćeni u ovoj studiji, c i d) klinički slučajevi koji bi odgovarali istoj klasi restauracije sa prisutnim dnom kaviteta

Ovo je prva studija koja je ispitivala uticaj inserata, pogotovo HAP inserata, na polimerizacionu kontrakciju, upotrebom 3D metode korelacije digitalnih slika. Ranije studije ispitivale su uticaj keramičkih inserata na marginalnu adaptaciju korišćenjem testa mikrocurenja (Basavanna et al., 2012, Salim et al., 2005), SEM analize procenta kontinuiranih margina posmatranjem replika (Heintze et al., 2005, Petrovic et al., 2010, Strobel et al., 2005) ili metodom živinog kupatila (Tani et al., 1993). Salim i saradnici su registrovali smanjeno mikrocurenje kod inserata cementiranih tečnim kompozitom (Crystal-Essence) u poređenju sa kontrolnim restauracijama bez inserta (Salim et al., 2005). Basavanna i saradnici ukazali su na bolju marginalnu adaptaciju restauracija koje su sadržale polietilenski vlaknasti (fiber) insert (Basavanna et al., 2012). Tani i saradnici su koristili keramički insert kao megapunilac i pronašli smanjenje polimerizacione kontrakcije ali bez pozitivnog uticaja na kontrakcioni napon, što je pripisano ograničenoj sposobnosti tečenja materijala (Tani et al., 1993). U ovoj studiji, površina inserta nije tretirana adhezivom, pa je tako bilo omogućeno tečenje materijala u toku polimerizacije. Ovo je potkrepljeno ispitivanjem jačine veze materijala i HAP inserata, odnosno gotovo zanemarivom jačinom veze kompozita direktno nanešenog na HAP insert bez upotrebe adheziva.

Kweon i saradnici su utvrdili da je centar polimerizacione kontrakcije kompozitnih restauracije lociran na četvrtini rastojanja od pulpe ka okluzalnoj površini (Kweon et al., 2013). Ista studija utvrdila je pomeranje od 17 μm u okluzalnim delovima kompozitne restauracije, 9 μm u srednjim delovima i 7 μm na dnu kaviteta, sa usmerenošću ka centru polimerizacione kontrakcije u svim delovima restauracije (Kweon et al., 2013). U ovoj studiji je testiran isti kompozit (Z250) i izmerena pomeranja su u centralnim delovima (sekcije 0 i 1) bila oko 19 μm , a u perifernim (sekcija 2) oko 12 μm , što su uporedive vrednosti sa vrednostima Kweon i saradnika (Kweon et al., 2013). HAP inserti su snizili ove vrednosti na 4 μm u centralnim, odnosno 11 μm u perifernim delovima restauracije. Veće pomeranje i kontrakcija tečnih u poređenju sa konvencionalnim kompozitima se podudara sa nalazima studije Chuanga i saradnika u kojoj je primenjena slična metoda korelacije digitalnih slika (Chuang et al., 2011). Ovakav nalaz je očekivan obzirom na manji udeo punilaca i smanjenu viskoznost tečnih kompozita.

Chuang i saradnici su pokazali da oblik samog kaviteta, njegova veličina, zatim odnos svetlosnog izvora i zidova kaviteta koji su tretirani adhezivnim sistemom utiče na vektore polimerizacione kontrakcije (Chuang et al., 2011). Kontrakcioni vektori ispitivanog tečnog kompozita i u ovoj studiji su se promenili iz horizontalne xy ravni u vertikalnu z-osu kada su primenjeni HAP inserti. Ovaj nalaz ukazuje da se tečenje materijala odvija u xy ravni u restauracijama bez HAP inserata usled dejstva naspramnih vezanih zidova dok se ovo tečenje odvija dominantno u z-osi u pravcu centra polimerizacije usled odsustva naspramnih vezanih površina uvođenjem HAP inserata. Na ovaj način HAP inserti mogu redukovati kontrakcioni napon u restaurativnom materijalu, što je u skladu sa predloženom hipotezom Petrovića i saradnika (Petrovic et al., 2010).

5. REZIME REZULTATA

4.4.1. Eksperimentalni kompoziti sa HAP puniocima

1. Zamena 10 mas% staklenih punilaca HAP-om je uzrokovala značajne promene u mehaničkim svojstvima eksperimentalnih kompozita.
2. Nije bilo značajne razlike u stepenu konverzije eksperimentalnih kompozita sa HAP puniocima međusobno i u odnosu na kontrolnu grupu.
3. Inicijalne vrednosti tvrdoće bile su niže u eksperimentalnim kompozitima sa HAP puniocima nego u kontrolnoj grupi, osim u grupi sa nedopiranim HAP sferama (*Sf* grupa). Kod *Nano* i *Tr_{Si}* grupa se beleži značajno povećanje tvrdoće posle potapanja u HBSS.
4. Inicijalna savojna čvrstoća bila je značajno veća u *Sf*, *Tr* i *Tr_{Si}* grupama u odnosu na kontrolu, dok su nakon starenja vrednosti savojne čvrstoće bile veće u *Sf* i *Sf_{Si}* grupama u odnosu na kontrolnu grupu. Starenje je dovelo do značajnog porasta savojnog modula elastičnosti kod *Nano*, *Sf* i *Tr* grupa.
5. Kompresivna čvrstoća razlikovala se u odnosu na kontrolnu grupu samo kod *Tr* grupe nakon starenja. Starenje nije uzrokovalo značajne promene ovog svojstva ni u eksperimentalnim ni u kontrolnoj grupi. Kompresivni moduo elastičnosti je inicijalno bio viši u *Tr* i *Tr_{Si}* grupama u odnosu na kontrolu, dok su nakon starenja sve grupe imale slične vrednosti. U kontrolnoj i *Sf_{Si}* grupi je došlo do značajnog porasta kompresivnog modula elastičnosti nakon starenja.
6. SEM analiza je pokazala dobro umešavanje mikro-čestičnih HAP punilaca, dok su nano-čestični HAP punioci pokazivali tendenciju aglomeracije. HAP sfere su imale retentivniju površinu od HAP traka usled prisustva velikog broja štapićastih primarnih čestica radijalno raspoređenih oko centralne šupljine. Stajanje u HBSS uzrokovalo je stvaranje apatitnih struktura na površini kompozita sa HAP puniocima, kao pokazatelj bioaktivnosti ispitivanih kompozita.

- SEM analiza lomnih strana uzoraka posle testa savijanja je pokazala da HAP sfere pucaju kroz centralnu šupljinu, razdvajajući primarne čestice, dok su kod HAP traka uočena tri tipa frakture: transverzalna fraktura, longitudinalna delaminacija i kombinacija ova dva tipa. Tip loma HAP trake zavisi od njene orijentacije u odnosu pravac širenja prsline, za razliku od sfera čija struktura čini da im otpornost bude uniformna u svim pravcima.

4.4.2. Adhezivi sa dodatkom nano-HAP suspenzija

- SBU_TE-1%HAP-trake* ostvarile su jaču vezu sa dentinom u odnosu na kontrolnu grupu (*SBU_TE*). Grupe sa 0,5% i 1% HAP traka su ostvarile jaču vezu nego grupe sa istim udelom HAP-iglica u *SBU_TE* adhezivu.
- SBU_SE-1%HAP-trake* grupa je ostvarila lošiju jačinu veze sa dentinom u odnosu na kontrolnu grupu (*SBU_SE*), dok se ostale grupe sa HAP puniocima nisu razlikovale od kontrole ni međusobno.
- TeE-0,5%HAP-trake* grupa ostvarila je značajno jaču vezu sa dentinom u poređenju sa kontrolnom i grupama sa 1% i 1,5% HAP-traka i HAP-iglica.
- Jačina veze kod *SBU_SE* adheziva bila je veća u odnosu na grupe sa totalnim nagrivanjem (*SBU_TE* i *TeE*). Najslabija veza ostvarivana je u *TeE* grupama gde su i lomovi adhezivnog tipa bili najzastupljeniji. *SBU_TE* grupe sa HAP-iglicama su takođe imale uglavnom adhezivne lomove, dok je isti adheziv sa HAP-trakama imao više mešovityh lomova, što je bio slučaj i za sve *SBU_SE* grupe, sa propagacijom loma u dentin.
- SEM analiza je pokazala da dodatak HAP punilaca, neovisno od oblika i udela, nije uticao na distribuciju adheziva na spoju sa dentinom i formiranje smolastih produžetaka u dentinskim kanalićima.

4.4.3. HAP inserti

1. Testirani materijalni ostvarili su različitu jačinu veze sa HAP-insertima. Najjača veza ostvarena je u *SBU_TE-Z250* grupi. Materijali vezani za HAP insert bez upotrebe adheziva (Vitrebond, Z250 i Tečni kompozit) ostvarili su znatno slabiju vezu.
2. U grupama sa jakom vezom materijala i inserta beleženi su mešoviti tipovi loma (sa propagacijom u insert), dok je u grupama sa slabom vezom beležen adhezivni tip loma.
3. HAP inserti su u svim grupama značajno smanjili zapreminsku kontrakciju centralnih zona ispuna.
4. Periferna zapreminska kontrakcija kompozita i smolom-modifikovanog glasjonomer cementa bila je slična u grupama sa i bez HAP inserta ali je količina upotrebljenog materijala bila skoro 3 puta manja.
5. HAP inserti su u svim grupama značajno smanjili pomeranje centralnih zona ispuna.
6. Pomeranje univerzalnog kompozita kao materijala za cementiranje HAP inserata bilo je značajno manje u odnosu na tečni kompozit i smolom-modifikovani glasjonomer cement u svim sekcijama.
7. SEM analiza preseka dentinskih diskova restaurisanih sa i bez HAP inserata pokazala je ostvarivanje intimne veze materijala i sa dentinom i sa insertom.
8. Nagrizanje površine HAP inserata 37%-nom fosfornom kiselinom uzrokovalo je povećanje postojećih i otvaranje novih pora, što je pogodovalo mikromehaničkoj retenciji. SBU adheziv aplikovan po samonagrizajućem protokolu takođe je dovelo do povećanja broja i promera pora, ali u manjem stepenu nego protokol totalnog nagrizanja.

6. ZAKLJUČAK

Hidroksiapatit kao biokompatibilan i bioaktivan mineral u kompozitima, u mehaničkom smislu ima potencijal da zameni deo standardno korišćenih staklenih punilaca. HAP sfere su doprinele unapređenju mehaničkih svojstava kompozita, koji su se pokazali rezistentnim na starenje materijala. Nano-HAP trake u udelima 0,5 i/ili 1% su doprinele pojačanju veze sa dentinom adheziva primenjenih nakon totalnog nagrizanja, pri čemu su svi adhezivi dobro distribuirani u dentinske kanaliće. Nano-trake su pokazale bolje rezultate u adhezivima aplikovanim po protokolu totalnog nagrizanja, a nano-iglicame u adhezivima aplikovanim po samonagrizajućem protokolu. HAP inserti sa kontrolisanom poroznošću imaju potencijalnu primenu kao reduktori kontrakcije i zamenici za dentin u velikim kavitetima. Dejstvom kiseline na površini inserta se formira reljef pogodan za mikromehaničku retenciju kao dominantni mehanizam adhezivne veze. Kao materijal izbora za cementiranje HAP inserata pokazao se univerzalni kompozit i odgovarajući adheziv po protokolu totalnog nagrizanja. Insert nakon neadhezivnog cementiranja ostvaruje intimnu vezu sa materijalima pri čemu nije uočena pojava mikropukotine na spoju sa dentinom.

7. LITERATURA

1. ABDALLA, A. I. & FEILZER, A. J. 2007. Morphological characterization of the interface between self-etching adhesives and vital dentin. *Am J Dent*, 20, 305-8.
2. ABRAHAM, C. M. 2014. A brief historical perspective on dental implants, their surface coatings and treatments. *Open Dent J*, 8, 50-5.
3. ANTONAKOS, A., LIAROKAPIS, E. & LEVENTOURI, T. 2007. Micro-Raman and FTIR studies of synthetic and natural apatites. *Biomaterials*, 28, 3043-54.
4. ARCIS, R. W., LOPEZ-MACIPE, A., TOLEDANO, M., OSORIO, E., RODRIGUEZ-CLEMENTE, R., MURTRA, J., FANOVICH, M. A. & PASCUAL, C. D. 2002. Mechanical properties of visible light-cured resins reinforced with hydroxyapatite for dental restoration. *Dent Mater*, 18, 49-57.
5. ASMUSSEN, E. & PEUTZFELDT, A. 1998. Influence of UEDMA BisGMA and TEGDMA on selected mechanical properties of experimental resin composites. *Dent Mater*, 14, 51-6.
6. BAIL, M., MALACARNE-ZANON, J., SILVA, S. M., ANAUATE-NETTO, A., NASCIMENTO, F. D., AMORE, R., LEWGOY, H., PASHLEY, D. H. & CARRILHO, M. R. 2012. Effect of air-drying on the solvent evaporation, degree of conversion and water sorption/solubility of dental adhesive models. *J Mater Sci Mater Med*, 23, 629-38.
7. BALAS, F., PEREZ-PARIENTE, J. & VALLET-REGI, M. 2003. In vitro bioactivity of silicon-substituted hydroxyapatites. *J Biomed Mater Res A*, 66, 364-75.
8. BASAVANNA, R., GARG, A. & KAPUR, R. 2012. Evaluation of gingival microleakage of class II resin composite restorations with fiber inserts: An in vitro study. *J Conserv Dent*, 15, 166-9.
9. BASINIS, A., VAN NOORT, R. & MARTIN, N. 2012. Infiltration of demineralized dentin with silica and hydroxyapatite nanoparticles. *Dent Mater*, 28, 1012-1023.
10. BECHTLE, S., FETT, T., RIZZI, G., HABELITZ, S., KLOCKE, A. & SCHNEIDER, G. A. 2010. Crack arrest within teeth at the dentinoenamel junction caused by elastic modulus mismatch. *Biomaterials*, 31, 4238-47.
11. BEKTAS, O. O., EREN, D., AKIN, E. G. & AKIN, H. 2013. Evaluation of a self-adhering flowable composite in terms of micro-shear bond strength and microleakage. *Acta Odontol Scand*, 71, 541-6.
12. BEUN, S., GLORIEUX, T., DEVAUX, J., VREVEN, J. & LELOUP, G. 2007. Characterization of nanofilled compared to universal and microfilled composites. *Dent Mater*, 23, 51-9.
13. BOSKEY, A. L., BULLOUGH, P. G., VIGORITA, V. & DI CARLO, E. 1988. Calcium-acidic phospholipid-phosphate complexes in human hydroxyapatite-containing pathologic deposits. *Am J Pathol*, 133, 22-9.
14. BRAGA, R. R., BALLESTER, R. Y. & FERRACANE, J. L. 2005. Factors involved in the development of polymerization shrinkage stress in resin-composites: a systematic review. *Dent Mater*, 21, 962-70.
15. BRUNTHALER, A., KONIG, F., LUCAS, T., SPERR, W. & SCHEDULE, A. 2003. Longevity of direct resin composite restorations in posterior teeth. *Clin Oral Investig*, 7, 63-70.
16. CADENARO, M., BRESCHI, L., ANTONIOLLI, F., NAVARRA, C. O., MAZZONI, A., TAY, F. R., DI LENARDA, R. & PASHLEY, D. H. 2008. Degree of conversion of resin blends in relation to ethanol content and hydrophilicity. *Dent Mater*, 24, 1194-200.
17. CADENARO, M., BRESCHI, L., RUEGGEBERG, F. A., AGEE, K., DI LENARDA, R., CARRILHO, M., TAY, F. R. & PASHLEY, D. H. 2009a. Effect of adhesive hydrophilicity and curing time on

- the permeability of resins bonded to water vs. ethanol-saturated acid-etched dentin. *Dent Mater*, 25, 39-47.
18. CADENARO, M., BRESCHI, L., RUEGGERBERG, F. A., SUCHKO, M., GRODIN, E., AGEE, K., DI LENARDA, R., TAY, F. R. & PASHLEY, D. H. 2009b. Effects of residual ethanol on the rate and degree of conversion of five experimental resins. *Dent Mater*, 25, 621-8.
 19. CAMPANA, V., MILANO, G., PAGANO, E., BARBA, M., CICIONE, C., SALONNA, G., LATTANZI, W. & LOGROSCINO, G. 2014. Bone substitutes in orthopaedic surgery: from basic science to clinical practice. *J Mater Sci Mater Med*.
 20. CHAMPION, E. 2013. Sintering of calcium phosphate bioceramics. *Acta Biomater*, 9, 5855-75.
 21. CHAN, Y. L., NGAN, A. H. & KING, N. M. 2009. Use of focused ion beam milling for investigating the mechanical properties of biological tissues: a study of human primary molars. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2, 375-83.
 22. CHANG, K. C., CHANG, C. C., CHEN, W. T., HSU, C. K., LIN, F. H. & LIN, C. P. 2014. Development of calcium phosphate/sulfate biphasic cement for vital pulp therapy. *Dent Mater*.
 23. CHEN, L., XU, C., WANG, Y., SHI, J., YU, Q. & LI, H. 2012. BisGMA/TEGDMA dental nanocomposites containing glyoxylic acid-modified high-aspect ratio hydroxyapatite nanofibers with enhanced dispersion. *Biomed Mater*, 7, 045014.
 24. CHEN, L., YU, Q., WANG, Y. & LI, H. 2011. BisGMA/TEGDMA dental composite containing high aspect-ratio hydroxyapatite nanofibers. *Dent Mater*, 27, 1187-95.
 25. CHEVALIER, J. & GREMILLARD, L. 2009. Ceramics for medical applications: A picture for the next 20 years. *Journal of the European Ceramic Society*, 29, 1245-1255.
 26. CHIANG, Y. C., ROSCH, P., DABANOGLU, A., LIN, C. P., HICKEL, R. & KUNZELMANN, K. H. 2010. Polymerization composite shrinkage evaluation with 3D deformation analysis from microCT images. *Dent Mater*, 26, 223-31.
 27. CHO, E., SADR, A., INAI, N. & TAGAMI, J. 2011. Evaluation of resin composite polymerization by three dimensional micro-CT imaging and nanoindentation. *Dent Mater*, 27, 1070-8.
 28. CHUANG, S. F., CHANG, C. H. & CHEN, T. Y. 2011. Spatially resolved assessments of composite shrinkage in MOD restorations using a digital-image-correlation technique. *Dent Mater*, 27, 134-43.
 29. CLIFFORD, S. S., ROMAN-ALICEA, K., TANTBIROJN, D. & VERSLUIS, A. 2009. Shrinkage and hardness of dental composites acquired with different curing light sources. *Quintessence Int*, 40, 203-14.
 30. COELHO, P. G., BONFANTE, E. A., MARIN, C., GRANATO, R., GIRO, G. & SUZUKI, M. 2010. A human retrieval study of plasma-sprayed hydroxyapatite-coated plateau root form implants after 2 months to 13 years in function. *J Long Term Eff Med Implants*, 20, 335-42.
 31. COLFEN, H. & MANN, S. 2003. Higher-order organization by mesoscale self-assembly and transformation of hybrid nanostructures. *Angew Chem Int Ed Engl*, 42, 2350-65.
 32. COLLARES, F. M., LEITUNE, V. C., ROSTIROLLA, F. V., TROMMER, R. M., BERGMANN, C. P. & SAMUEL, S. M. 2012. Nanostructured hydroxyapatite as filler for methacrylate-based root canal sealers. *Int Endod J*, 45, 63-7.
 33. CONDE, M. C., ZANCHI, C. H., RODRIGUES-JUNIOR, S. A., CARRENO, N. L., OGLIARI, F. A. & PIVA, E. 2009. Nanofiller loading level: Influence on selected properties of an adhesive resin. *J Dent*, 37, 331-5.
 34. CUI, F. Z. & GE, J. 2007. New observations of the hierarchical structure of human enamel, from nanoscale to microscale. *J Tissue Eng Regen Med*, 1, 185-91.

35. DANTAS, R. V., SARMENTO, H. R., DUARTE, R. M., MEIRELES MONTE RASO, S. S., DE ANDRADE, A. K. & DOS ANJOS-PONTUAL, M. L. 2013. Radiopacity of restorative composites by conventional radiograph and digital images with different resolutions. *Imaging Sci Dent*, 43, 145-51.
36. DE MUNCK, J., MINE, A., POITEVIN, A., VAN ENDE, A., CARDOSO, M. V., VAN LANDUYT, K. L., PEUMANS, M. & VAN MEERBEEK, B. 2012. Meta-analytical review of parameters involved in dentin bonding. *J Dent Res*, 91, 351-7.
37. DE MUNCK, J., VAN DEN STEEN, P. E., MINE, A., VAN LANDUYT, K. L., POITEVIN, A., OPDENAKKER, G. & VAN MEERBEEK, B. 2009. Inhibition of enzymatic degradation of adhesive-dentin interfaces. *J Dent Res*, 88, 1101-6.
38. DE MUNCK, J., VARGAS, M., VAN LANDUYT, K., HIKITA, K., LAMBRECHTS, P. & VAN MEERBEEK, B. 2004. Bonding of an auto-adhesive luting material to enamel and dentin. *Dent Mater*, 20, 963-71.
39. DEBNATH, S., RANADE, R., WUNDER, S. L., MCCOOL, J., BOBERICK, K. & BARAN, G. 2004. Interface effects on mechanical properties of particle-reinforced composites. *Dent Mater*, 20, 677-86.
40. DIETSCHI, D. & HERZFELD, D. 1998. In vitro evaluation of marginal and internal adaptation of class II resin composite restorations after thermal and occlusal stressing. *Eur J Oral Sci*, 106, 1033-42.
41. DOMINGO, C., ARCIS, R. W., LOPEZ-MACIPE, A., OSORIO, R., RODRIGUEZ-CLEMENTE, R., MURTRA, J., FANOVICH, M. A. & TOLEDANO, M. 2001. Dental composites reinforced with hydroxyapatite: mechanical behavior and absorption/elution characteristics. *J Biomed Mater Res*, 56, 297-305.
42. DOMINGO, C., ARCIS, R. W., OSORIO, E., OSORIO, R., FANOVICH, M. A., RODRIGUEZ-CLEMENTE, R. & TOLEDANO, M. 2003. Hydrolytic stability of experimental hydroxyapatite-filled dental composite materials. *Dent Mater*, 19, 478-86.
43. DUNN, W. J. 2004. Establishing proximal contacts with pre-polymerized composite inserts. *Oper Dent*, 29, 473-6.
44. ERMIS, R. B., YILDIRIM, D., YILDIZ, G. & GORMEZ, O. 2014. Radiopacity evaluation of contemporary resin composites by digitization of images. *Eur J Dent*, 8, 342-7.
45. FARINA, M., SCHEMMEL, A., WEISSMULLER, G., CRUZ, R., KACHAR, B. & BISCH, P. M. 1999. Atomic force microscopy study of tooth surfaces. *J Struct Biol*, 125, 39-49.
46. FEDERLIN, M., THONEMANN, B. & SCHMALZ, G. 2000. Inserts--megafillers in composite restorations: a literature review. *Clin Oral Investig*, 4, 1-8.
47. FEILZER, A. J., DE GEE, A. J. & DAVIDSON, C. L. 1987. Setting stress in composite resin in relation to configuration of the restoration. *J Dent Res*, 66, 1636-9.
48. FERRACANE, J. L. 1995. Current trends in dental composites. *Crit Rev Oral Biol Med*, 6, 302-18.
49. FERRACANE, J. L. 2011. Resin composite--state of the art. *Dent Mater*, 27, 29-38.
50. FERRACANE, J. L., BERGE, H. X. & CONDON, J. R. 1998. In vitro aging of dental composites in water--effect of degree of conversion, filler volume, and filler/matrix coupling. *J Biomed Mater Res*, 42, 465-72.
51. FERRARI, M., CAGIDIACO, M. C., KUGEL, G. & DAVIDSON, C. L. 1996. Dentin infiltration by three adhesive systems in clinical and laboratory conditions. *Am J Dent*, 9, 240-4.
52. FINCHAM, A. G., MORADIAN-OLDAK, J. & SIMMER, J. P. 1999. The structural biology of the developing dental enamel matrix. *J Struct Biol*, 126, 270-99.
53. FRANKENBERGER, R., PERDIGAO, J., ROSA, B. T. & LOPES, M. 2001. "No-bottle" vs "multi-bottle" dentin adhesives--a microtensile bond strength and morphological study. *Dent Mater*, 17, 373-80.

54. GALGUT, P. N., WAITE, I. M. & TINKLER, S. M. 1990. Histological investigation of the tissue response to hydroxyapatite used as an implant material in periodontal treatment. *Clin Mater*, 6, 105-21.
55. GHOSH, S. K., NANDI, S. K., KUNDU, B., DATTA, S., DE, D. K., ROY, S. K. & BASU, D. 2008. In vivo response of porous hydroxyapatite and beta-tricalcium phosphate prepared by aqueous solution combustion method and comparison with bioglass scaffolds. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 86, 217-27.
56. GORUCU, J. 2003. Fracture resistance of class II preformed ceramic insert and direct composite resin restorations. *J Dent*, 31, 83-8.
57. GUDA, T., WALKER, J. A., SINGLETON, B., HERNANDEZ, J., OH, D. S., APPLEFORD, M. R., ONG, J. L. & WENKE, J. C. 2014. Hydroxyapatite scaffold pore architecture effects in large bone defects in vivo. *J Biomater Appl*, 28, 1016-27.
58. GUTIÉRREZ-SALAZAR, M. D. P. & REYES-GASGA, J. 2003. Microhardness and chemical composition of human tooth *Materials Research*, 6, 367-373.
59. HAHN, P., SCHALLER, H. G., MULLNER, U. & HELLWIG, E. 1998. Marginal leakage in class II restorations after use of ceramic-inserts luted with different materials. *J Oral Rehabil*, 25, 567-74.
60. HAHNEL, S., DOWLING, A. H., EL-SAFY, S. & FLEMING, G. J. 2012. The influence of monomeric resin and filler characteristics on the performance of experimental resin-based composites (RBCs) derived from a commercial formulation. *Dent Mater*, 28, 416-23.
61. HANABUSA, M., MINE, A., KUBOKI, T., MOMOI, Y., VAN ENDE, A., VAN MEERBEEK, B. & DE MUNCK, J. 2012. Bonding effectiveness of a new 'multi-mode' adhesive to enamel and dentine. *J Dent*, 40, 475-84.
62. HARADA, K. M., CAPUTO, A. A. & MITO, R. S. 1997. Evaluation of microleakage of composite restorations with glass insert megafillers. *J Esthet Dent*, 9, 306-10.
63. HE, G., GUO, B., WANG, H., LIANG, C., YE, L., LIN, Y. & CAI, X. 2014. Surface characterization and osteoblast response to a functionally graded hydroxyapatite/fluoro-hydroxyapatite/titanium oxide coating on titanium surface by sol-gel method. *Cell Prolif*, 47, 258-66.
64. HEINTZE, S. D., CAVALLERI, A. & ROUSSON, V. 2005. The marginal quality of luted ceramic inserts in bovine teeth and ceramic inlays in extracted molars after occlusal loading. *J Adhes Dent*, 7, 213-23.
65. HEINTZE, S. D. & ZIMMERLI, B. 2011. Relevance of in vitro tests of adhesive and composite dental materials. A review in 3 parts. Part 3: in vitro tests of adhesive systems. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*, 121, 1024-40.
66. HERVAS-GARCIA, A., MARTINEZ-LOZANO, M. A., CABANES-VILA, J., BARJAU-ESCRIBANO, A. & FOS-GALVE, P. 2006. Composite resins. A review of the materials and clinical indications. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 11, E215-20.
67. HONDA, T., TAKAGI, M., UCHIDA, N., SAITO, K. & UEMATSU, K. 1990. Post-composition control of hydroxyapatite in an aqueous medium. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 1, 114-117.
68. HORNEZ, J. C., CHAI, F., MONCHAU, F., BLANCHEMAIN, N., DESCAMPS, M. & HILDEBRAND, H. F. 2007. Biological and physico-chemical assessment of hydroxyapatite (HA) with different porosity. *Biomol Eng*, 24, 505-9.
69. HOSSEINALIPOUR, M., JAVADPOUR, J., REZAIE, H., DADRAS, T. & HAYATI, A. N. 2010. Investigation of mechanical properties of experimental Bis-GMA/TEGDMA dental composite resins containing various mass fractions of silica nanoparticles. *J Prosthodont*, 19, 112-7.

70. HSU, Y. H., TURNER, I. G. & MILES, A. W. 2007. Mechanical characterization of dense calcium phosphate bioceramics with interconnected porosity. *J Mater Sci Mater Med*, 18, 2319-29.
71. HUANG, S., GAO, S., CHENG, L. & YU, H. 2011. Remineralization potential of nano-hydroxyapatite on initial enamel lesions: an in vitro study. *Caries Res*, 45, 460-8.
72. ILIE, N. & HICKEL, R. 2009a. Investigations on mechanical behaviour of dental composites. *Clin Oral Investig*, 13, 427-38.
73. ILIE, N. & HICKEL, R. 2009b. Macro-, micro- and nano-mechanical investigations on silorane and methacrylate-based composites. *Dent Mater*, 25, 810-9.
74. IMBENI, V., NALLA, R. K., BOSI, C., KINNEY, J. H. & RITCHIE, R. O. 2003. In vitro fracture toughness of human dentin. *J Biomed Mater Res A*, 66, 1-9.
75. IMBERY, T. A., NAMBOODIRI, A., DUNCAN, A., AMOS, R., BEST, A. M. & MOON, P. C. 2013. Evaluating dentin surface treatments for resin-modified glass ionomer restorative materials. *Oper Dent*, 38, 429-38.
76. JANACKOVIC, D., PETROVIC-PRELEVIC, I., KOSTIC-GVOZDENOVIC, L., PETROVIC, R., JOKANOVIC, V. & USKOKOVIC, D. 2001. Influence of synthesis parameters on the particle sizes of nanostructured calcium-hydroxyapatite. *Key Eng. Mater.*, 203, 192-195.
77. JANG, D. W., FRANCO, R. A., SARKAR, S. K. & LEE, B. T. 2014. Fabrication of porous hydroxyapatite scaffolds as artificial bone preform and its biocompatibility evaluation. *ASAIO J*, 60, 216-23.
78. JOKIC, B., MITRIC, M., POPOVIC, M., SIMA, L., PETRESCU, S. M., PETROVIC, R. & JANACKOVIC, D. 2011. The influence of silicon substitution on the properties of spherical- and whisker-like biphasic alpha-calcium-phosphate/hydroxyapatite particles. *J Mater Sci Mater Med*, 22, 2175-85.
79. JOKIC B, M. M., RADMILOVIC D, DRMANIC S, PETROVIC RJ, JANACKOVIC D. 2011. Synthesis and characterization of monetite and hydroxyapatite whiskers obtained by a hydrothermal method. *Ceram Int*, 37, 167-173.
80. JOKIĆ, B. M. 2011. *Proučavanje procesa formiranja poroznih biokompatibilnih materijala na bazi nedopiranih i silicijumom dopiranih kalcijum-fosfata i hidroksiapatita*. Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu.
81. KATO, C., SUZUKI, M., SHINKAI, K. & KATOH, Y. 2011. Histopathological and immunohistochemical study on the effects of a direct pulp capping experimentally developed adhesive resin system containing reparative dentin-promoting agents. *Dent Mater J*, 30, 583-97.
82. KHASHABA, R. M., CHUTKAN, N. B. & BORKE, J. L. 2009. Comparative study of biocompatibility of newly developed calcium phosphate-based root canal sealers on fibroblasts derived from primary human gingiva and a mouse L929 cell line. *Int Endod J*, 42, 711-8.
83. KIBA, W., IMAZATO, S., TAKAHASHI, Y., YOSHIOKA, S., EBISU, S. & NAKANO, T. 2010. Efficacy of polyphasic calcium phosphates as a direct pulp capping material. *J Dent*, 38, 828-37.
84. KIM, J. S., CHO, B. H., LEE, I. B., UM, C. M., LIM, B. S., OH, M. H., CHANG, C. G. & SON, H. H. 2005. Effect of the hydrophilic nanofiller loading on the mechanical properties and the microtensile bond strength of an ethanol-based one-bottle dentin adhesive. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 72, 284-91.
85. KIM, K. H., ONG, J. L. & OKUNO, O. 2002. The effect of filler loading and morphology on the mechanical properties of contemporary composites. *J Prosthet Dent*, 87, 642-9.
86. KINGERY, W. D., BOWEN, H. K. & UHLMANN, D. R. 1976. *Introduction to Ceramics*.

87. KINNEY, J. H., BALOOCH, M., MARSHALL, G. W. & MARSHALL, S. J. 1999. A micromechanics model of the elastic properties of human dentine. *Arch Oral Biol*, 44, 813-22.
88. KINNEY, J. H., MARSHALL, S. J. & MARSHALL, G. W. 2003. The mechanical properties of human dentin: a critical review and re-evaluation of the dental literature. *Crit Rev Oral Biol Med*, 14, 13-29.
89. KINNEY, J. H., POPLE, J. A., MARSHALL, G. W. & MARSHALL, S. J. 2001. Collagen orientation and crystallite size in human dentin: a small angle X-ray scattering study. *Calcif Tissue Int*, 69, 31-7.
90. KIREMITCI, A., BOLAY, S. & GURGAN, S. 1998. Two-year performance of glass-ceramic insert-resin composite restorations: clinical and scanning electron microscopic evaluation. *Quintessence Int*, 29, 417-21.
91. KOBAYASHI, M., NAKAMURA, T., TAMURA, J., KOKUBO, T. & KIKUTANI, T. 1997. Bioactive bone cement: comparison of AW-GC filler with hydroxyapatite and beta-TCP fillers on mechanical and biological properties. *J Biomed Mater Res*, 37, 301-13.
92. KODAKA, T. 2003. Original article scanning electron microscopic observations of surface prismless enamel formed by minute crystals in some human permanent teeth. *Anat Sci Int*, 78, 79-84.
93. KODAKA, T., NAKAJIMA, F. & HIGASHI, S. 1989. Structure of the so-called 'prismless' enamel in human deciduous teeth. *Caries Res*, 23, 290-6.
94. KWEON, H., LEE, S. W., HAHN, B. D., LEE, Y. C. & KIM, S. G. 2014. Hydroxyapatite and silk combination-coated dental implants result in superior bone formation in the peri-implant area compared with hydroxyapatite and collagen combination-coated implants. *J Oral Maxillofac Surg*, 72, 1928-36.
95. KWEON, H. J., FERRACANE, J., KANG, K., DHONT, J. & LEE, I. B. 2013. Spatio-temporal analysis of shrinkage vectors during photo-polymerization of composite. *Dent Mater*, 29, 1236-43.
96. KWON, B. J., KIM, J., KIM, Y. H., LEE, M. H., BAEK, H. S., LEE, D. H., KIM, H. L., SEO, H. J., LEE, M. H., KWON, S. Y., KOO, M. A. & PARK, J. C. 2013. Biological advantages of porous hydroxyapatite scaffold made by solid freeform fabrication for bone tissue regeneration. *Artif Organs*, 37, 663-70.
97. KWON, Y., FERRACANE, J. & LEE, I. B. 2012. Effect of layering methods, composite type, and flowable liner on the polymerization shrinkage stress of light cured composites. *Dent Mater*, 28, 801-9.
98. LABELLA, R., BRADEN, M. & DEB, S. 1994. Novel hydroxyapatite-based dental composites. *Biomaterials*, 15, 1197-200.
99. LACHOWSKI, K. M., BOTTA, S. B., LASCALA, C. A., MATOS, A. B. & SOBRAL, M. A. 2013. Study of the radio-opacity of base and liner dental materials using a digital radiography system. *Dentomaxillofac Radiol*, 42, 20120153.
100. LEE, I. B., MIN, S. H. & SEO, D. G. 2012. A new method to measure the polymerization shrinkage kinetics of composites using a particle tracking method with computer vision. *Dent Mater*, 28, 212-8.
101. LEE, J. J., LEE, Y. K., CHOI, B. J., LEE, J. H., CHOI, H. J., SON, H. K., HWANG, J. W. & KIM, S. O. 2010. Physical properties of resin-reinforced glass ionomer cement modified with micro and nano-hydroxyapatite. *J Nanosci Nanotechnol*, 10, 5270-6.
102. LEITUNE, V. C., COLLARES, F. M., TROMMER, R. M., ANDRIOLI, D. G., BERGMANN, C. P. & SAMUEL, S. M. 2013. The addition of nanostructured hydroxyapatite to an experimental adhesive resin. *J Dent*, 41, 321-7.
103. LELOUP, G., D'HOORE, W., BOUTER, D., DEGRANGE, M. & VREVEN, J. 2001. Meta-analytical review of factors involved in dentin adherence. *J Dent Res*, 80, 1605-14.

104. LENZI, T. L., GUGLIELMI CDE, A., ARANA-CHAVEZ, V. E. & RAGGIO, D. P. 2013. Tubule density and diameter in coronal dentin from primary and permanent human teeth. *Microsc Microanal*, 19, 1445-9.
105. LI, J., FOK, A. S., SATTERTHWAITTE, J. & WATTS, D. C. 2009a. Measurement of the full-field polymerization shrinkage and depth of cure of dental composites using digital image correlation. *Dent Mater*, 25, 582-8.
106. LI, J., FOK, A. S. L., SATTERTHWAITTE, J. & WATTS, D. C. 2009b. Measurement of the full-field polymerization shrinkage and depth of cure of dental composites using digital image correlation. *Dent Mater*, 25, 582-588.
107. LIN-GIBSON, S., SUNG, L., FORSTER, A. M., HU, H., CHENG, Y. & LIN, N. J. 2009. Effects of filler type and content on mechanical properties of photopolymerizable composites measured across two-dimensional combinatorial arrays. *Acta Biomater*, 5, 2084-94.
108. LIN, C. P., DOUGLAS, W. H. & ERLANDSEN, S. L. 1993. Scanning electron microscopy of type I collagen at the dentin-enamel junction of human teeth. *J Histochem Cytochem*, 41, 381-8.
109. LIU, F., WANG, R., CHENG, Y., JIANG, X., ZHANG, Q. & ZHU, M. 2013. Polymer grafted hydroxyapatite whisker as a filler for dental composite resin with enhanced physical and mechanical properties. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 33, 4994-5000.
110. MALACARNE-ZANON, J., PASHLEY, D. H., AGEE, K. A., FOULGER, S., ALVES, M. C., BRESCHI, L., CADENARO, M., GARCIA, F. P. & CARRILHO, M. R. 2009. Effects of ethanol addition on the water sorption/solubility and percent conversion of comonomers in model dental adhesives. *Dent Mater*, 25, 1275-84.
111. MALINA, D., BIERNAT, K. & SOBCZAK-KUPIEC, A. 2013. Studies on sintering process of synthetic hydroxyapatite. *Acta Biochim Pol*, 60, 851-5.
112. MARSHALL, G. W., JR., BALOOCH, M., GALLAGHER, R. R., GANSKY, S. A. & MARSHALL, S. J. 2001. Mechanical properties of the dentinoenamel junction: AFM studies of nanohardness, elastic modulus, and fracture. *J Biomed Mater Res*, 54, 87-95.
113. MARSHALL, G. W., JR., MARSHALL, S. J., KINNEY, J. H. & BALOOCH, M. 1997. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *J Dent*, 25, 441-58.
114. MARTINSEN, M., EL-HAJJAR, R. F. & BERZINS, D. W. 2013. 3D full field strain analysis of polymerization shrinkage in a dental composite. *Dent Mater*, 29, e161-7.
115. MELDRUM, F. C. & COLFEN, H. 2008. Controlling mineral morphologies and structures in biological and synthetic systems. *Chem Rev*, 108, 4332-432.
116. MILETIC, V. 2010. *Micro-Raman spectroscopic studies on the adhesive-dentine interface and the degree of conversion of dental adhesives*. Ph.D. thesis, The University of Edinburgh.
117. MILETIC, V., MANOJLOVIC, D., MILOSEVIC, M., MITROVIC, N., STANKOVIC, T. S. & MANESKI, T. 2011. Analysis of local shrinkage patterns of self-adhering and flowable composites using 3D digital image correlation. *Quintessence Int*, 42, 797-804.
118. MILETIC, V., PONGPRUEKSA, P., DE MUNCK, J., BROOKS, N. R. & VAN MEERBEEK, B. 2013. Monomer-to-polymer conversion and micro-tensile bond strength to dentine of experimental and commercial adhesives containing diphenyl(2,4,6-trimethylbenzoyl)phosphine oxide or a camphorquinone/amine photo-initiator system. *J Dent*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2013.07.007>.
119. MILLAR, B. J. & ROBINSON, P. B. 2006. Eight year results with direct ceramic restorations (Cerana). *Br Dent J*, 201, 515-20.
120. MILOSEVIC, M., MILETIC, V., MITROVIC, N., MANOJLOVIC, D., STANKOVIC, T. S. & MANESKI, T. 2011. Measurement of local deformation fields in dental composites using 3D optical system *Chem.Listy*, 105, s751-s753.

121. MIN, J. H., KWON, H. K. & KIM, B. I. 2011. The addition of nano-sized hydroxyapatite to a sports drink to inhibit dental erosion: in vitro study using bovine enamel. *J Dent*, 39, 629-35.
122. MIYAZAKI, M., ANDO, S., HINOURA, K., ONOSE, H. & MOORE, B. K. 1995. Influence of filler addition to bonding agents on shear bond strength to bovine dentin. *Dent Mater*, 11, 234-8.
123. MONTES, M. A., DE GOES, M. F., DA CUNHA, M. R. & SOARES, A. B. 2001. A morphological and tensile bond strength evaluation of an unfilled adhesive with low-viscosity composites and a filled adhesive in one and two coats. *J Dent*, 29, 435-41.
124. MORAES, R. R., GARCIA, J. W., WILSON, N. D., LEWIS, S. H., BARROS, M. D., YANG, B., PFEIFER, C. S. & STANSBURY, J. W. 2012. Improved dental adhesive formulations based on reactive nanogel additives. *J Dent Res*, 91, 179-84.
125. NAKABAYASHI, N. & SAIMI, Y. 1996. Bonding to intact dentin. *J Dent Res*, 75, 1706-15.
126. NAYAK, A. K. 2010. Hydroxyapatite Synthesis Methodologies: An Overview. *International Journal of ChemTech Research*, 2, 903-907r.
127. NERY, E. B., LEGEROS, R. Z., LYNCH, K. L. & LEE, K. 1992. Tissue response to biphasic calcium phosphate ceramic with different ratios of HA/beta TCP in periodontal osseous defects. *J Periodontol*, 63, 729-35.
128. NOOHOM, W., JACK, K. S., MARTIN, D. & TRAU, M. 2009. Understanding the roles of nanoparticle dispersion and polymer crystallinity in controlling the mechanical properties of HA/PHBV nanocomposites. *Biomed Mater*, 4, 015003.
129. NUJELLA, B. P., CHOUDARY, M. T., REDDY, S. P., KUMAR, M. K. & GOPAL, T. 2012. Comparison of shear bond strength of aesthetic restorative materials. *Contemp Clin Dent*, 3, 22-6.
130. NUNES, M. F., SWIFT, E. J. & PERDIGAO, J. 2001. Effects of adhesive composition on microtensile bond strength to human dentin. *Am J Dent*, 14, 340-3.
131. OKAMURA, H., MIYASAKA, T. & HAGIWARA, T. 2006. Development of dental composite resin utilizing low-shrinking and low-viscous monomers. *Dent Mater J*, 25, 437-44.
132. ONG, J. C., KENNEDY, M. T., MITRA, A. & HARTY, J. A. 2012. Fixation of tibial plateau fractures with synthetic bone graft versus natural bone graft: a comparison study. *Ir J Med Sci*, 181, 247-52.
133. OONISHI, H., TSUJI, E., ISHIMARU, H. & YAMAMOTO, M. Clinical Significance of Chemical Bonds Between Bioactive Ceramics and Bone in Orthopaedic Surgery. *Bioceramics. Proc. 2 nd Int. Symp. Ceramics in Medicine.*, 1989. 278-285.
134. OYANE, A., ONUMA, K., ITO, A., KIM, H. M., KOKUBO, T. & NAKAMURA, T. 2003. Formation and growth of clusters in conventional and new kinds of simulated body fluids. *J Biomed Mater Res A*, 64, 339-48.
135. PARK, J., CHANG, J., FERRACANE, J. & LEE, I. B. 2008. How should composite be layered to reduce shrinkage stress: incremental or bulk filling? *Dent Mater*, 24, 1501-5.
136. PARK, J. B. & LAKES, R. S. 1992. *Biomaterials*. Springer US.
137. PARK, S. W., LEE, Y. K., KIM, Y. U., KIM, M. C., KIM, K. N., CHOI, B. J. & CHOI, H. J. 2005. The effect of hydroxyapatite on remineralization of dental fissure sealants. *Key Engineering Materials*, 284-286, 35-38.
138. PASHLEY, D. H. & CARVALHO, R. M. 1997. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent*, 25, 355-72.
139. PETROVIC, L. M., DROBAC, M. R., STOJANAC, I. & ATANACKOVIC, T. M. 2010. A method of improving marginal adaptation by elimination of singular stress point in composite restorations during resin photo-polymerization. *Dent Mater*, 26, 449-55.
140. PFEIFER, C. S., SILVA, L. R., KAWANO, Y. & BRAGA, R. R. 2009. Bis-GMA co-polymerizations: influence on conversion, flexural properties, fracture toughness and

- susceptibility to ethanol degradation of experimental composites. *Dent Mater*, 25, 1136-41.
141. PHRUKKANON, S., BURROW, M. F. & TYAS, M. J. 1998. The influence of cross-sectional shape and surface area on the microtensile bond test. *Dent Mater*, 14, 212-21.
 142. PICK, B., PELKA, M., BELLI, R., BRAGA, R. R. & LOHBAUER, U. 2011. Tailoring of physical properties in highly filled experimental nanohybrid resin composites. *Dent Mater*, 27, 664-9.
 143. POITEVIN, A., DE MUNCK, J., VAN ENDE, A., SUYAMA, Y., MINE, A., PEUMANS, M. & VAN MEERBEEK, B. 2013. Bonding effectiveness of self-adhesive composites to dentin and enamel. *Dent Mater*, 29, 221-30.
 144. PONGPRUEKSA, P., MILETIC, V., DE MUNCK, J., BROOKS, N. R., MEERSMAN, F., NIES, E., VAN MEERBEEK, B. & VAN LANDUYT, K. L. 2014. Effect of evaporation on the shelf life of a universal adhesive. *Oper Dent*, 39, 500-7.
 145. RADOVIC, I., MONTICELLI, F., GORACCI, C., VULICEVIC, Z. R. & FERRARI, M. 2008. Self-adhesive resin cements: a literature review. *J Adhes Dent*, 10, 251-8.
 146. RASMUSSEN, S. T. & PATCHIN, R. E. 1984. Fracture properties of human enamel and dentin in an aqueous environment. *J Dent Res*, 63, 1362-8.
 147. ROVERI, N., BATTISTELLA, E., BIANCHI, C. L., FOLTRAN, I., FORESTI, E., IAFISCO, M., LELLI, M., NALDONI, A., PALAZZO, B. & RIMONDINI, L. 2009. Surface enamel remineralization: biomimetic apatite nanocrystals and fluoride ions different effects. *Journal of Nanomaterials*, 2009, 8.
 148. ROVERI, N. & IAFISCO, M. 2010. Evolving application of biomimetic nanostructured hydroxyapatite. *Nanotechnol Sci Appl*, 3, 107-25.
 149. SABBAGH, J., RYELANDT, L., BACHERIUS, L., BIEBUYCK, J. J., VREVEN, J., LAMBRECHTS, P. & LELOUP, G. 2004. Characterization of the inorganic fraction of resin composites. *J Oral Rehabil*, 31, 1090-101.
 150. SABER, M. H., LOOMANS, B. A., EL ZOHAIRY, A., DORFER, C. E. & EL-BADRAWY, W. 2010. Evaluation of proximal contact tightness of Class II resin composite restorations. *Oper Dent*, 35, 37-43.
 151. SADAT-SHOJAI, M. 2009. Preparation of Hydroxyapatite Nanoparticles: Comparison between Hydrothermal and Solvo-Treatment Processes and Coloidal Stability of Produced Nanoparticles in a Dilute Experimental Dental Adhesive. *J Iran Chem Soc*, 6, 386-392.
 152. SADAT-SHOJAI, M., ATAI, M., NODEHI, A. & KHANLAR, L. N. 2010. Hydroxyapatite nanorods as novel fillers for improving the properties of dental adhesives: Synthesis and application. *Dent Mater*, 26, 471-82.
 153. SALIM, S., SANTINI, A. & SAFAR, K. N. 2005. Microleakage around glass-ceramic insert restorations luted with a high-viscous or flowable composite. *J Esthet Restor Dent*, 17, 30-8; discussion 39.
 154. SANO, H., CIUCCHI, B., MATTHEWS, W. G. & PASHLEY, D. H. 1994a. Tensile properties of mineralized and demineralized human and bovine dentin. *J Dent Res*, 73, 1205-11.
 155. SANO, H., SHONO, T., SONODA, H., TAKATSU, T., CIUCCHI, B., CARVALHO, R. & PASHLEY, D. H. 1994b. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength--evaluation of a micro-tensile bond test. *Dent Mater*, 10, 236-40.
 156. SANTERRE, J., SHAJII L, LEUNG BW 2001. Relation of dental composite formulations to their degradation and the release of hydrolyzed polymeric-resin-derived products. *Crit Rev Oral Biol Med*, 12, 136-51.
 157. SANTINI, A. & MILETIC, V. 2008. Comparison of the hybrid layer formed by Silorane adhesive, one-step self-etch and etch and rinse systems using confocal micro-Raman spectroscopy and SEM. *J Dent*, 36, 683-91.

158. SANTOS, C., CLARKE, R. L., BRADEN, M., GUITIAN, F. & DAVY, K. W. 2002. Water absorption characteristics of dental composites incorporating hydroxyapatite filler. *Biomaterials*, 23, 1897-904.
159. SANTOS, C., LUKLINSKA, Z. B., CLARKE, R. L. & DAVY, K. W. 2001. Hydroxyapatite as a filler for dental composite materials: mechanical properties and in vitro bioactivity of composites. *J Mater Sci Mater Med*, 12, 565-73.
160. SARRETT, D. C. 2005. Clinical challenges and the relevance of materials testing for posterior composite restorations. *Dent Mater*, 21, 9-20.
161. SATTERTHWAITTE, J. D., MAISURIA, A., VOGEL, K. & WATTS, D. C. 2012. Effect of resin-composite filler particle size and shape on shrinkage-stress. *Dent Mater*, 28, 609-14.
162. SCHERRER, S. S., CESAR, P. F. & SWAIN, M. V. 2010. Direct comparison of the bond strength results of the different test methods: a critical literature review. *Dent Mater*, 26, e78-93.
163. SCHNEIDER, L. F., CAVALCANTE, L. M. & SILIKAS, N. 2010. Shrinkage Stresses Generated during Resin-Composite Applications: A Review. *J Dent Biomech*, 2010 vol. 1 no. 1 131630 1-14.
164. SEGURA, A. & RIGGINS, R. 1999. Fracture resistance of four different restorations for cuspal replacement. *J Oral Rehabil*, 26, 928-31.
165. SENCER, P., WANG, Y., WALKER, M. P. & SWAFFORD, J. R. 2001. Molecular structure of acid-etched dentin smear layers--in situ study. *J Dent Res*, 80, 1802-7.
166. SHAH, M. B., FERRACANE, J. L. & KRUZIC, J. J. 2009. Mechanistic aspects of fatigue crack growth behavior in resin based dental restorative composites. *Dent Mater*, 25, 909-16.
167. SHAYEGAN, A., ATASH, R., PETEIN, M. & ABEELE, A. V. 2010. Nanohydroxyapatite used as a pulpotomy and direct pulp capping agent in primary pig teeth. *J Dent Child (Chic)*, 77, 77-83.
168. SHINKAI, K., TAIRA, Y., SUZUKI, M., KATO, C., EBIHARA, T., WAKAKI, S., SEKI, H., SHIRONO, M., OGISU, T., YAMAUCHI, J., SUZUKI, S. & KATOH, Y. 2009. Dentin bond strength of a new adhesive system containing calcium phosphate experimentally developed for direct pulp capping. *Dent Mater J*, 28, 743-9.
169. SIDERIDOU, I. D. & KARABELA, M. M. 2009. Effect of the amount of 3-methacyloxypropyltrimethoxysilane coupling agent on physical properties of dental resin nanocomposites. *Dent Mater*, 25, 1315-24.
170. SJOGREN, G., HEDLUND, S. O., JONSSON, C. & SANDSTROM, A. 2000. A 3-year follow-up study of preformed beta-quartz glass-ceramic insert restorations. *Quintessence Int*, 31, 25-31.
171. SOARES, C. J., BICALHO, A. A., TANTBIROJN, D. & VERSLUIS, A. 2013. Polymerization shrinkage stresses in a premolar restored with different composite resins and different incremental techniques. *J Adhes Dent*, 15, 341-50.
172. SODERHOLM, K. J. 1981. Degradation of glass filler in experimental composites. *J Dent Res*, 60, 1867-75.
173. SODERHOLM, K. J., MUKHERJEE, R. & LONGMATE, J. 1996. Filler leachability of composites stored in distilled water or artificial saliva. *J Dent Res*, 75, 1692-9.
174. SOLHI, L., ATAI, M., NODEHI, A., IMANI, M., GHAEMI, A. & KHOSRAVI, K. 2012. Poly(acrylic acid) grafted montmorillonite as novel fillers for dental adhesives: synthesis, characterization and properties of the adhesive. *Dent Mater*, 28, 369-77.
175. SPENCER, P. & WANG, Y. 2002. Adhesive phase separation at the dentin interface under wet bonding conditions. *J Biomed Mater Res*, 62, 447-56.
176. STROBEL, W. O., PETSCHULT, A., KEMMOONA, M. & FRANKENBERGER, R. 2005. Ceramic inserts do not generally improve resin composite margins. *J Oral Rehabil*, 32, 606-13.

177. SUN, J. & LIN-GIBSON, S. 2008. X-ray microcomputed tomography for measuring polymerization shrinkage of polymeric dental composites. *Dent Mater*, 24, 228-34.
178. SWARUP, S. J., RAO, A., BOAZ, K., SRIKANT, N. & SHENOY, R. 2014. Pulpal response to nano hydroxyapatite, mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide when used as a direct pulp capping agent: an in vivo study. *J Clin Pediatr Dent*, 38, 201-6.
179. TAMURA, Y., KAKUTA, K. & OGURA, H. 2013. Wear and mechanical properties of composite resins consisting of different filler particles. *Odontology*, 101, 156-69.
180. TANI, Y., NAMBU, T., ISHIKAWA, A. & KATSUYAMA, S. 1993. Polymerization shrinkage and contraction force of composite resin restorative inserted with "Megafiller". *Dent Mater J*, 12, 182-9.
181. TAY, F. R., MOULDING, K. M. & PASHLEY, D. H. 1999. Distribution of nanofillers from a simplified-step adhesive in acid-conditioned dentin. *J Adhes Dent*, 1, 103-17.
182. UEMURA, K., KANAMORI, A., AOTO, K., YAMAZAKI, M. & SAKANE, M. 2014. Novel unidirectional porous hydroxyapatite used as a bone substitute for open wedge high tibial osteotomy. *J Mater Sci Mater Med*.
183. UNO, S. & FINGER, W. J. 1996. Effects of acidic conditioners on dentine demineralization and dimension of hybrid layers. *J Dent*, 24, 211-6.
184. VAN BLITTERSWIJK, C. A., HESSELING, S. C., GROTE, J. J., KOERTEN, H. K. & DE GROOT, K. 1990. The biocompatibility of hydroxyapatite ceramic: a study of retrieved human middle ear implants. *J Biomed Mater Res*, 24, 433-53.
185. VAN LANDUYT, K. L., SNAUWAERT, J., DE MUNCK, J., PEUMANS, M., YOSHIDA, Y., POITEVIN, A., COUTINHO, E., SUZUKI, K., LAMBRECHTS, P. & VAN MEERBEEK, B. 2007. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials*, 28, 3757-85.
186. VAN MEERBEEK, B., DE MUNCK, J., YOSHIDA, Y., INOUE, S., VARGAS, M., VIJAY, P., VAN LANDUYT, K., LAMBRECHTS, P. & VANHERLE, G. 2003. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent*, 28, 215-35.
187. VAN MEERBEEK, B., PERDIGAO, J., LAMBRECHTS, P. & VANHERLE, G. 1998. The clinical performance of adhesives. *J Dent*, 26, 1-20.
188. VAN MEERBEEK, B., PEUMANS, M., POITEVIN, A., MINE, A., VAN ENDE, A. & NEVES, A. 2010a. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dent Mater*, 26, e100-121.
189. VAN MEERBEEK, B., PEUMANS, M., POITEVIN, A., MINE, A., VAN ENDE, A., NEVES, A. & DE MUNCK, J. 2010b. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dent Mater*, 26, e100-21.
190. VAN MEERBEEK, B. & YOSHIHARA, K. 2014. Clinical recipe for durable dental bonding: why and how? *J Adhes Dent*, 16, 94.
191. VAN NIEUWENHUYSEN, J. P., D'HOORE, W., CARVALHO, J. & QVIST, V. 2003. Long-term evaluation of extensive restorations in permanent teeth. *J Dent*, 31, 395-405.
192. VANI, R., GIRIJA, E. K., ELAYARAJA, K., PRAKASH PARTHIBAN, S., KESAVAMOORTHY, R. & NARAYANA KALKURA, S. 2009. Hydrothermal synthesis of porous triphasic hydroxyapatite/(alpha and beta) tricalcium phosphate. *J Mater Sci Mater Med*, 20 Suppl 1, S43-8.
193. VELJOVIC, D., JANČIĆ-HAJNEMAN, R., BALAĆ, I., JOKIĆ, B., PUTIĆ, S., PETROVIĆ, R. & JANAČKOVIĆ, D. 2011. The effect of the shape and size of the pores on the mechanical properties of porous HAP-based bioceramics. *Ceram Int*, 37, 471-479.
194. VELJOVIC D, J. B., PETROVIC R, PALCEVSKIS E, DINDUN A, MICHAILESCU IN, JANACKOVIC D. 2009. Processing of dense nanostructured HAP ceramics by sintering and hot pressing. *Ceram Int*, 35, 1407-1413.

195. VELJOVIC, D., PALCEVSKIS, E., DINDUNE, A., PUTIĆ, S., BALAC, I., PETROVIĆ, R. & DJ., J. 2010. Microwave sintering improves the mechanical properties of biphasic calcium phosphates from hydroxyapatite microspheres produced from hydrothermal processing. *J. Mater. Sci.*, 45, 3175-3183.
196. VELJOVIC D, Z. I., PALCEVSKIS E, SMICIKLAS I, PETROVIC R, JANACKOVIC D. 2010. Microwave sintering of fine grained HAP and HAP/TCP bioceramics. *Ceram Int*, 36, 595-603.
197. VELJOVIĆ, D. N. 2010. *Ispitivanje uticaja parametara procesiranja na svojstva biokeramičkih materijala na bazi kalcijum-hidroksiapatita i kalcijum-fosfata dobijenih različitim tehnikama sinterovanja*. phd, Univerzitet u Beogradu.
198. VITTI, R. P., PRATI, C., SINHORETI, M. A., ZANCHI, C. H., SOUZA, E. S. M. G., OGLIARI, F. A., PIVA, E. & GANDOLFI, M. G. 2013. Chemical-physical properties of experimental root canal sealers based on butyl ethylene glycol disalicylate and MTA. *Dent Mater*, 29, 1287-94.
199. WAGNER, A., BELLI, R., STOTZEL, C., HILPERT, A., MULLER, F. A. & LOHBAUER, U. 2013. Biomimetically- and Hydrothermally-grown HAP Nanoparticles as Reinforcing Fillers for Dental Adhesives. *J Adhes Dent*, 15, 10 pages.
200. WANG, A. J., LU, Y. P., ZHU, R. F., LI, S. T., XIAO, G. Y., ZHAO, G. F. & XU, W. H. 2008. Effect of sintering on porosity, phase, and surface morphology of spray dried hydroxyapatite microspheres. *J Biomed Mater Res A*, 87, 557-62.
201. WANG, R. Z. & WEINER, S. 1998. Strain-structure relations in human teeth using Moire fringes. *J Biomech*, 31, 135-41.
202. WANG, Y. & SPENCER, P. 2004. Effect of acid etching time and technique on interfacial characteristics of the adhesive-dentin bond using differential staining. *Eur J Oral Sci*, 112, 293-9.
203. WANG, Y., SPENCER, P., YAO, X. & YE, Q. 2006. Effect of coinitiator and water on the photoreactivity and photopolymerization of HEMA/camphoquinone-based reactant mixtures. *J Biomed Mater Res A*, 78, 721-8.
204. WANG, Y. & YAO, X. 2010. Morphological/chemical imaging of demineralized dentin layer in its natural, wet state. *Dent Mater*, 26, 433-42.
205. WE, M., RUYS, A. J., SWAIN, M. V., MILTHORPE, B. K. & SORRELL, C. C. 2005. Hydroxyapatite-coated metals: interfacial reactions during sintering. *J Mater Sci-Mater in Med*, 16, 101-6.
206. WEBSTER, T. J., MASSA-SCHLUETER, E. A., SMITH, J. L. & SLAMOVICH, E. B. 2004. Osteoblast response to hydroxyapatite doped with divalent and trivalent cations. *Biomaterials*, 25, 2111-21.
207. WHITE, E. W., WEBER, J. N., ROY, D. M., OWEN, E. L., CHIROFF, R. T. & WHITE, R. A. 1975. Replamineform porous biomaterials for hard tissue implant applications. *J Biomed Mater Res*, 9, 23-7.
208. WHITTAKER, D. K. 1982. Structural variations in the surface zone of human tooth enamel observed by scanning electron microscopy. *Arch Oral Biol*, 27, 383-92.
209. WILLEMS, G., LAMBRECHTS, P., BRAEM, M. & VANHERLE, G. 1993. Composite resins in the 21st century. *Quintessence Int*, 24, 641-58.
210. XUE, J., ZAVGORODNIY, A. V., KENNEDY, B. J., SWAIN, M. V. & LI, W. 2013. X-ray microdiffraction, TEM characterization and texture analysis of human dentin and enamel. *J Microsc*, 251, 144-53.
211. YAMASAKI, L. C., DE VITO MORAES, A. G., BARROS, M., LEWIS, S., FRANCCI, C., STANSBURY, J. W. & PFEIFER, C. S. 2013. Polymerization development of "low-shrink" resin composites: Reaction kinetics, polymerization stress and quality of network. *Dent Mater*, 29, e169-79.

212. YANG, X., FAN, D., MATTEW, S. & MORADIAN-OLDAK, J. 2011. Amelogenin-enamelin association in phosphate-buffered saline. *Eur J Oral Sci*, 119 Suppl 1, 351-6.
213. YANG, X., WANG, L., QIN, Y., SUN, Z., HENNEMAN, Z. J., MORADIAN-OLDAK, J. & NANCOLLAS, G. H. 2010. How amelogenin orchestrates the organization of hierarchical elongated microstructures of apatite. *J Phys Chem B*, 114, 2293-300.
214. YAP, A. U., PEK, Y. S., KUMAR, R. A., CHEANG, P. & KHOR, K. A. 2002. Experimental studies on a new bioactive material: HALonomer cements. *Biomaterials*, 23, 955-62.
215. YASAEI, M., ZAMANIAN, A., MOZTARZADEH, F., GHAFARI, M. & MOZAFARI, M. 2013. Characteristics improvement of calcium hydroxide dental cement by hydroxyapatite nanoparticles. Part 1: formulation and microstructure. *Biotechnol Appl Biochem*, 60, 502-9.
216. YE, Q., SPENCER, P., WANG, Y. & MISRA, A. 2007. Relationship of solvent to the photopolymerization process, properties, and structure in model dentin adhesives. *J Biomed Mater Res A*, 80, 342-50.
217. YIU, C. K., PASHLEY, E. L., HIRAISHI, N., KING, N. M., GORACCI, C., FERRARI, M., CARVALHO, R. M., PASHLEY, D. H. & TAY, F. R. 2005. Solvent and water retention in dental adhesive blends after evaporation. *Biomaterials*, 26, 6863-72.
218. YOSHIDA, Y., NAGAKANE, K., FUKUDA, R., NAKAYAMA, Y., OKAZAKI, M., SHINTANI, H., INOUE, S., TAGAWA, Y., SUZUKI, K., DE MUNCK, J. & VAN MEERBEEK, B. 2004. Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J Dent Res*, 83, 454-8.
219. YOSHIDA, Y., YOSHIHARA, K., NAGAOKA, N., HAYAKAWA, S., TORII, Y., OGAWA, T., OSAKA, A. & MEERBEEK, B. V. 2012. Self-assembled Nano-layering at the Adhesive interface. *J Dent Res*, 91, 376-81.
220. YOSHIOKA, M., YOSHIDA, Y., INOUE, S., LAMBRECHTS, P., VANHERLE, G., NOMURA, Y., OKAZAKI, M., SHINTANI, H. & VAN MEERBEEK, B. 2002. Adhesion/decalcification mechanisms of acid interactions with human hard tissues. *J Biomed Mater Res*, 59, 56-62.
221. ZAYTSEV, D., IVASHOV, A. S., MANDRA, J. V. & PANFILOV, P. 2014. On the deformation behavior of human dentin under compression and bending. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 41, 83-90.
222. ZEIGER, D. N., SUN, J., SCHUMACHER, G. E. & LIN-GIBSON, S. 2009. Evaluation of dental composite shrinkage and leakage in extracted teeth using X-ray microcomputed tomography. *Dent Mater*, 25, 1213-20.
223. ZHAN, J., TSENG, Y.-H., CHAN, J. C. C. & MOU, C.-Y. 2005. Biomimetic Formation of Hydroxyapatite Nanorods by a Single-Crystal-to-Single-Crystal Transformation. *Advanced Functional Materials*, 15, 2005-2010.
224. ZHANG, H. & DARVELL, B. W. 2012. Mechanical properties of hydroxyapatite whisker-reinforced bis-GMA-based resin composites. *Dent Mater*, 28, 824-30.
225. ZHANG, H. & ZHANG, M. 2010a. Biocompatibility and bioactivity of hydroxyapatite whiskers reinforced bis-GMA based composites. *2010 3rd International Conference on Biomedical Engineering and Informatics (BMEI 2010)*, 1640-1644.
226. ZHANG, H. & ZHANG, M. 2010b. Effect of surface treatment of hydroxyapatite whiskers on the mechanical properties of bis-GMA-based composites. *Biomed Mater*, 5, 054106.
227. ZHANG, Y. & WANG, Y. 2012a. The effect of hydroxyapatite presence on the degree of conversion and polymerization rate in a model self-etching adhesive. *Dent Mater*, 28, 237-44.
228. ZHANG, Y. & WANG, Y. 2012b. Hydroxyapatite effect on photopolymerization of self-etching adhesives with different aggressiveness. *J Dent*, 40, 564-70.

229. ZHANG, Y. & WANG, Y. 2012c. Improved degree of conversion of model self-etching adhesives through their interaction with dentine. *J Dent*, 40, 57-63.
230. ZHANG, Y., WU, N., BAI, X., XU, C., LIU, Y. & WANG, Y. 2013. Hydroxyapatite induces spontaneous polymerization of model self-etch dental adhesives. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 33, 3670-6.
231. ZHENG, Q., XU, H., SONG, F., ZHANG, L., ZHOU, X., SHAO, Y. & HUANG, D. 2013. Spatial distribution of the human enamel fracture toughness with aging. *J Mech Behav Biomed Mater*, 26, 148-54.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Маја М. Лежаја

број уписа 10/2010

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

КОМПОЗИТИ И АДХЕЗИВИ СА СИНТЕТСКИМ
ХИДРОКСИАПАТИТНИМ ПУНИОЦИМА И ХИДРОКСИАПАТИТНИ
ИНСЕРТИ: ИСПИТИВАЊЕ МЕХАНИЧКИХ СВОЈСТАВА И
КВАЛИТЕТА АДХЕЗИВНЕ ВЕЗЕ

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 12.01.2015.

Маја Лежаја

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Маја М. Лежаја

Број уписа 10/2010

Студијски програм докторске академске студије, модул:
Мултидисциплинарни приступ решавању базичних и клиничких проблема у
стоматологији

Наслов рада КОМПОЗИТИ И АДХЕЗИВИ СА СИНТЕТСКИМ
ХИДРОКСИАПАТИТНИМ ПУНИОЦИМА И ХИДРОКСИАПАТИТНИ ИНСЕРТИ:
ИСПИТИВАЊЕ МЕХАНИЧКИХ СВОЈСТАВА И КВАЛИТЕТА АДХЕЗИВНЕ ВЕЗЕ

Ментор Доц. Др Весна Милетић

Потписани Маја Лежаја

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 12.01.2015.

Маја Лежаја

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

КОМПОЗИТИ И АДХЕЗИВИ СА СИНТЕТСКИМ ХИДРОКСИАПАТИТНИМ ПУНИОЦИМА И ХИДРОКСИАПАТИТНИ ИНСЕРТИ: ИСПИТИВАЊЕ МЕХАНИЧКИХ СВОЈСТАВА И КВАЛИТЕТА АДХЕЗИВНЕ ВЕЗЕ

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 12.01.2015.

Мaja Ležaja

BIOGRAFIJA

Dr Maja M. Ležaja rođena je 12.01.1984. godine u Zadru, Republika Hrvatska gde je započela osnovno školsko obrazovanje. Od 1995. osnovnu i srednju zubotehničku školu nastavlja u Beogradu sa odličnim uspehom za šta je odlikovana Vukovom nagradom. Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu upisuje 2002. godine. Diplomirala je 21.11.2007. godine sa prosečnom ocenom 9,43. Kao student osnovnih studija učestvovala je na tri studentska kongresa, na kojima je kao autor prezentovala tri rada, dok je u još tri rada bila koautor. Dobitnik je nagrade za najbolje prezentovan rad u sesiji na 49. studentskom kongresu biomedicinskih nauka. U toku školske 2005/06 radila je kao demonstrator na predmetu 'Dentalna anatomija'. Doktorske studije upisuje 2010. godine i polaže sve ispite sa prosečnom ocenom 9,81. Opređeljuje se za istraživanja iz oblasti restaurativne stomatologije, te započinje istraživanja na odabranu temu u laboratoriji Klinike za bolesti zuba i endodonciju, pod mentorstvom Doc. dr Vesne Miletić. U toku doktorskih studija prezentovala je rezultate istraživanja na tri međunarodna naučna kongresa. U toku školske 2011/12 učestvovala u vođenju vežbi na Klinici za bolesti zuba i endodonciju, na predmetu 'Restaurativna odontologija'. Član je istraživačke grupe DentalNet. Na Stomatološkom fakultetu je zaposlena od 2012. godine kao istraživač-pripravnik preko projekta ON172007 finansiranog od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije. Objavila je tri rada u indeksiranim časopisima sa SCI liste, od čega dva objavljena rada obuhvataju istraživanja sprovedena u okviru doktorske disertacije. Udata je i ima ćerku.