Određivanje zaostatnih monomera i ostalih gradivnih sastojaka kod debeloslojnih kompozitnih materijala

Lapaš Barišić, Matea

Doctoral thesis / Disertacija

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Dental Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:127:889179

Rights / Prava: Attribution-NonCommercial 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno 4.0 međunarodna

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-15**

Repository / Repozitorij:

University of Zagreb School of Dental Medicine Repository

Sveučilište u Zagrebu

Stomatološki fakultet

Matea Lapaš Barišić

ODREĐIVANJE ZAOSTATNIH MONOMERA I OSTALIH GRADIVNIH SASTOJAKA KOD DEBELOSLOJNIH KOMPOZITNIH MATERIJALA

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2024.

Sveučilište u Zagrebu

Stomatološki fakultet

Matea Lapaš Barišić

ODREĐIVANJE ZAOSTATNIH MONOMERA I OSTALIH GRADIVNIH SASTOJAKA KOD DEBELOSLOJNIH KOMPOZITNIH MATERIJALA

DOKTORSKI RAD

Mentor:

prof. dr. sc. Vlatko Pandurić

Zagreb, 2024.

University of Zagreb

School of Dental Medicine

Matea Lapaš Barišić

DETECTION OF RESIDUAL MONOMERS AND OTHER LEACHABLE COMPONENTS FROM BULK FILL RESIN COMPOSITE MATERIALS

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisor:

Professor Vlatko Pandurić, PhD

Zagreb, 2024

Rad je izrađen na Zavodu za endodonciju i restaurativnu stomatologiju Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu te Centru za forenzička ispitivanja, istraživanja i vještačenja „Ivan Vučetić“.

Istraživanje je odobreno od etičkog povjerenstva Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (broj 05-PA-30-XXI-10/2020).

Povjerenstvo za ocjenu i obranu doktorskoga rada:

prof. dr. sc. Zrinka Tarle

prof. dr. sc. Bernard Janković

doc. dr. sc. Dragana Fabris

Datum obrane rada:

11.4.2024

Voditelj rada: prof. dr. sc. Vlatko Pandurić, Zavod za endodonciju i restaurativnu stomatologiju, Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Lektor hrvatskog jezika: Kristina Dilica, prof.

Lektor engleskog jezika: Dijana Posedi, prof.

Rad sadrži:

77 stranica

6 tablica

20 slika

1 CD

Rad je vlastito autorsko djelo, koje je u potpunosti samostalno napisano uz naznaku izvora drugih autora i dokumenata korištenih u radu.

Sve ilustracije (tablice, slike) u radu su izvorni doprinos autora poslijediplomskog doktorskog rada. Autor je odgovoran za pribavljanje dopuštenja za korištenje ilustracija koje nisu njegov izvorni doprinos, kao i za sve eventualne posljedice koje mogu nastati zbog nedopuštenog preuzimanja ilustracija, odnosno, propusta u navođenju njihovoga porijekla.

Zahvala

Zahvaljujem svom mentoru prof. dr. sc. Vlatku Panduriću na pomoći i savjetima tijekom izrade ovog rada.

Veliko hvala dr. sc. Hrvoju Sarajliji i Ivanu Sabolu na korisnim savjetima tijekom izrade ovoga rada.

Hvala prof. dr. sc. Aleni Knežević na pomoći i moralnoj potpori tijekom izrade ovog rada.

Posebna zahvalnost prof. dr. sc. Evi Klarić, hvala na svemu i hvala za našu suradnju.

Hvala doc. dr. sc. Dragani Fabris na izninmo korisnim savjetima tijekom izrade ovog rada.

Naposljetku, hvala mom didi i baki koji su dočekali i doživjeli sva razdoblja moga školovanja, osim, nažalost, ovog… i mojoj mami Zlati na podršci.

Najviše hvala suprugu Hrvoju i sinu Adrianu na razumijevanju i bezrezervnoj podršci

Ovo je naš zajednički uspjeh.

„MI SMO, DAKLE, ONO ŠTO OPETOVANO RADIMO. IZVRSNOST, DAKLE, NIJE ČIN: VEĆ NAVIKA.“ (ARISTOTEL)

SAŽETAK

Svrha ovog rada bila je istražiti količinu zaostatnih komponenti (monomera) u krutim i tekućim konvencionalnim (*Gradia, Filtek Supreme, Tetric Evo Ceram, Gradia Direct flo, Filtek Supreme flo, Tetric Evo flow*) te krutim i tekućim debeloslojnim kompozitnim materijalima (*Tetric EvoCeram Bulk fill, X-tra fill, Filtek Bulk Fill, Filtek Bulk Fill flow, SDR, Tetric Evoflow Bulk fill*) nakon polimerizacije koji mogu biti odgovorni za alergijska i genotoksična svojstva u usnoj šupljini i organizmu općenito. Šest debeloslojnih (krutih i tekućih) i šest konvencionalnih (krutih i tekućih) kompozitnih materijala je upotrijebljeno u ovoj studiji.

Uzorci svakog od materijala (tri seta od tri uzorka od svakog materijala) su polimerizirani 20 sekundi prema uputama proizvođača i uronjeni u 75% otopinu etanola te pohranjeni na 37 °C u tamni okoliš.

Uzorci svakog od materijala analizirani su 24 sata, 7 dana i 28 dana nakon polimerizacije metodom tekućinske kromatografije s dvojnom spektrometrijom masa (LC-MS/MS).

Mjerljive količine 2-hidroksiletilmetakrilata (HEMA) su pronađene u oba *Gradia* materijala i količina nađena unutar različitih vremenskih intervala bila je statistički različita ($p < 0,05$), s povećanjem otpuštanja tijekom vremena kod materijala *Gradia* te smanjenjem otpuštanja tijekom vremena kod materijala *Gradia Direct flo*.

Bisfenol-A-glicidil metakrilat (BiS-GMA) nađen je kod *Filtek* i *Tetric* materijala.

Trietilenglikol-dimetakrilat (TEGDMA) je pronađena u svim materijalima.

S druge strane, nije bilo statistički značajne razlike u količini otpuštanja TEGDME kroz različite vremenske periode nakon polimerizacije kod niti jednog od testiranih materijala.

Monomeri HEMA, TEGDMA, etilni ester 4 dimetilbenzojeve kiseline (DMA-BEE) i BiS - GMA kod debeloslojnih i konvencionalnih krutih i tekućih kompozitnih materijala mogu biti otpušteni i detektirani nakon polimerizacije.

Rezultati ove studije pokazuju da pojedini kompozitni materijali otpuštaju veće količine zaostatnih monomera od drugih.

Ključne riječi: tekućinska kromatografija s dvojnom spektrometrijom masa (LC-MS/MS); kompozitni materijali, debeloslojni kompozitni materijali, otpuštanje, zaostatni monomer

EXTENDED SUMMARY

Detection of leachable components from conventional and bulk fill resin composites (high and low viscosity) using liquid chromatography – tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method

Aim

Light cure dental composites are the materials of choice in restorative dentistry due to the their esthetic properties, mechanical strength and applicability in minimally invasive procedures. The time-consuming incremental technique has recently been replaced by a bulk technique thanks to the discovery of bulk – filling composites. Ten percent of the elution of resin composites is caused by free monomers.

The aim of this study was to investigate the amount of leachable components (monomers) in high and low viscosity dental bulk-fill resin composites and conventional resin composite materials after polymerization, because it is indicated that they can be eluted in oral environment and may cause cytotoxic reactions on pulp and living tissues.

Materials and methods

In this study, six commercially bulk fill dental composites were investigated and compared with six conventional composites. Low and high viscosity composite samples were prepared and light cured according to the standard protocol (20 sec of irradiation with 1200 mW/cm^3 in a wavelength range of 380-550 nm) using a LED-curing device, Bluephase G2 and immersed in 75% ethanol solution at 37 °C. After a dark storage period of 24 h, 7 days or 28 days, the eluates were collected and analysed using liquid chromatography coupled with triple quadrupole tandem mass spectrometry (LC-MS/MS).

Results

Detectable amounts of 2-Hydroxyethylmetacrylate (HEMA) were found in both *Gradia* materials and the amount observed across different time points was statistically different ($p<0,05$), with the amount in solution increasing for *Gradia* and decreasing for *Gradia Direct flo.*

Bisphenol A diglycidildimethacrylate (BiS-GMA) was found in Filtek and and Tetric materials.

Triethylene glycoldimethacrylate (TEGDMA) was detected in all materials. On the other hand, there were no statistically significant differences in the amounts of TEGDMA detected across different time points in either of the tested materials.

Conclusion

Monomers HEMA, TEGDMA, 4 –dimethylaminobenzoic acid ethyl ester (DMA BEE) and BiS GMA in bulk fill and conventional composites (high and low viscosity) can be eluted into the oral environment after polymerization.

The results indicate that the effect may be ambiguous, as apparently materials from different manufacturers release some monomers more than others.

Key words: liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS), dental composites, bulk fill composites, elution, residual monomer

SADRŽAJ

SAŽETAK

EXTENDED SUMMARY

POPIS OZNAKA I KRATICA

1. UVOD 1
   1.1. Razvoj kompozitnih materijala 2
   1.2. Sastav kompozitnih materijala 4
   1.3. Svojstva kompozitnih materijala 12
   1.4. Podjela kompozitnih materijala 15
2. SVRHA ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZE 21
   2.1. Svrha istraživanja 22
   2.2. Hipoteze istraživanja 22
3. MATERIJALI I POSTUPCI 23
   3.1. Materijali 24
   3.2. Priprema uzoraka 24
   3.3. Mjerna tehnika 27
   3.4. Statističke metode 29
4. REZULTATI 31
5. RASPRAVA 53
6. ZAKLJUČCI 63
7. LITERATURA 65
8. ŽIVOTOPIS 74

POPIS OZNAKA I KRATICA

KRATICA	ZNAČENJE
LC-MS/MS	Tekućinska kromatografija s dvojnom spektrometrijom masa
ANOVA	Analiza varijance
DC	Stupanj konverzije
HEMA	2-hidroksietilmetakrilat
Bis-GMA	Bisfenol-A-diglicidil metakrilat
TEGDMA	Trietilen-glikol dimetakrilat
DMA-BEE	Etilni ester 4 dimetilbenzojeve kiseline
LED	Svjetleća dioda
UDMA	Uretan dimetakrilat
Bis EMA	Bisfenol -A-etil metakrilat
G	Gradia
GDf	Gradia Direct flo
FBf	Filtek Bulk Fill
FBFf	Filtek Bulk Fill flow
TeCBf	Tetric Evo Ceram Bulk Fill
Xf	X- tra Fill
TefBf	Tetric EvoFlow Bulk Fill
Fs	Filtek Supreme
TeC	TetricEvo Ceram
Fsf	Filtek Supreme flow
Tef	TetricEvo flow

1. UVOD

Dugi niz godina se u dentalnoj medicini težilo materijalu za nadoknadu tvrdih zubnih tkiva koji bi, osim dobrih fizikalno-mehaničkih svojstava (čvrstoća, tvrdoća, rubna prilagodba, netopivost) te biokompatibilnosti, imao i dobre estetske osobine te oponašao zub po boji, translucenciji, obliku i teksturi. Razvojem i pojavom suvremenih kompozitnih materijala, što se smatra jednim od najvećih uspjeha, ostvarili su se ti zahtjevi (1).

Kompozitni materijali imaju primjenu u svim granama dentalne medicine – karijesni defekti, traume, morfološke i estetske abnormalnosti, diskoloracija u trajnoj i mješovitoj denticiji, pečaćenje fisura, inlay, onlay, overlej, krunice, izradba nadogradnji, udlaga, pričvršćivanje ortodontskih bravica i sl (2).

Kompozitni materijal je kombinacija dva ili više kemijski različitih materijala s jasnim graničnim spojem između komponenti i svojstvima boljim od svake komponente od koje je sastavljen.

Sastoji se od organskog i anorganskog dijela međusobno povezanih spojnim sredstvom tj. kombinacija su dva ili više kemijski različitih materijala sa jasnim graničnim spojem između komponenti. U sastav mu ulaze i stabilizatori boje, pigmenti i aktivacijski sustav. Već na samom početku izrade kompozitnih ispuna, prije polimerizacije, u usnoj šupljini može doći do otpuštanja zaostatnih monomera . Odmah nakon polimerizacije određeni postotak zaostatnih monomera u usnoj šupljini može uzrokovati geno i citotoksične učinke djelujući na gingivu i ulazeći u stanice pulpe kroz dentinske tubuluse. Protokom vremena, tijekom trošenja ispuna abrazijom, atricijom također ulazi u slinu te može prouzročiti nepoželjne efekte i alergijske reakcije (3).

Ne postoji općenito prihvaćena definicija za kompozitne materijale. Lutz i Phillips 1983. god. navode: „Svaki složeni materijal temeljen na umreženim polimernim materijalima posjeduje trodimenzijsku strukturu koju čine najmanje dvije kemijski različite komponente s jasnom međusobnom granicom (4).“

1.1. Razvoj kompozitnih materijala

Kompozitni materijali se u dentalnoj medicini primjenjuju još od 1937. godine. Najprije su razvijeni kao PMMA (polimetil metakrilat) koji su se primjenjivali u protetici.

1955. godine Buonocore otkriva da se u caklini stvaraju pore nakon jetkanja ortofosfornom kiselinom te da nastaju mikromehaničke retencije u caklini.

Prijelomna je bila 1961. godina (patent US3179623A) kada je Rafael Bowen s američkog Nacionalnog instituta za standarde i tehnologiju osmislio Bis-GMA, bisfenol–A-glicidil metakrilat tzv. Bowenovu smolu (5).

Bis-GMA nastaje kao proizvod kemijske reakcije između glicidil metakrilata i bisfenola A i jednak je kao završni proizvod kemijske reakcije komercijalne epoksidne smole i metakrilatne kiseline. Miješanje Bis-GMA s razrjeđujućim monomerima te punilima od stakla i praha SiO_2 označilo je početak primjene kompozitnih materijala u dentalnoj medicini (6). Hrapava površina, grube čestice punila i nestabilnost boje karakterizirala je kompozitne materijale u početku, a kasnije je uvođenje svjetlosne polimerizacije i optimizacija punila imalo veliku važnost, isto kao i usavršavanje adhezijske i minimalno invazivne tehnologije.

Kompozitni materijal u početku se primjenjivao u restauraciji karijesnih lezija prednjih zuba, a onda i kao izbor za ispune kod lateralnih zuba (7).

Od 1962. godine, odnosno uvođenja Bowenove smole, kontinuirano se poboljšavaju svojstva kompozitnog materijala – optimizira se organska matrica, čestice punila i fotoinicijatora u svrhu postizanja materijala optimalnih kliničkih svojstava (8).

1969. godine Robert Chang razvio je prve dvokomponentne kompozite u obliku pasta/tekućina, međutim nedostatak je bio nestalne proporcije, pogreška u miješanju te stabilnost boje materijala.

1970. godine Henry Lee je komercijalizirao prvi kompozit u obliku pasta/pasta, u tom razdoblju vrlo viskozni monomer počinje se razrijeđivati više tekućim monomerom trietilenglikol-dimetakrilatom (TEGDMA).

1970. – 1977. godine pojavljuju se svjetlosno-polimerizirajući kompoziti, koji se stvrdnjavaju pomoću UV svjetla, čije su mane slab učinak te iatrogene posljedice.

1977. godine počinje polimerizacija vidljivim svjetlom, a krajem 1970-tih godine uvode se novi monomeri (makropunjeni i mikropunjeni kompoziti).

Početkom 1980. godine uvode se hibridni kompozitni materijali, a 1982. godine, Nakabayashi dokazuje postojanje hibridnog sloja, što podrazumijeva adheziju materijala i u caklini i u dentinu.

Sredinom devedestetih godina pojavljuju se tekući, kondenzibilni i mikrohibridni kompoziti, a 2000. godine nanopunjeni i nanohibridni kompozitni materijali. Daljnji napredak ostvaruje se razvojem niskoskupljajućih kompozita, a 2010. godine i samojetkajućih tekućih kompozita.

Došlo je i do razvoja debeloslojnih *(*engl.*bulk fill)* kompozitnih materijala, materijala koji se postavljaju u debelom sloju (4 mm), čiji se način primjene potpuno razlikuje od, do tada, nužnog postavljanja materijala u slojevima (9).

Razvoj kompozita prati i razvoj adhezijskih sustava (sustava koji omogućuju adheziju kompozita na zubno tkivo, obzirom da se kompozitni materijali na zub vežu kemijskim putem) otkuda i naziv adhezijska dentalna medicina.

Kompozitni materijali se i danas neprekidno razvijaju, a sve u svrhu poboljšavanja njihovih svojstava.

1.2. Sastav kompozitnih materijala

Kompozitni materijali sastoje se od četiri osnovne komponente:

1. organska smolasta matrica
2. anorganske čestice punila
3. svezujuće sredstvo
4. ostale komponente (inicijatori, inhibitori, stabilizatori, pigmenti) (10).

1. ORGANSKA SMOLASTA MATRICA

Organska smolasta matrica je osnova kompozita u koju se dodaju ostali sastojci, predstavlja 12 – 40 % mase, s obzirom na količinu punila, a čine ju različiti monomeri u kojoj su čestice punila kovalentno vezane.

Za vrijeme polimerizacije monomerna matrica se pretvara u polimernu na specifičan način te strukture stvorenih polimera znatno utječu na svojstva kompozita.

Budući da metakrilati pokazuju najmanju toksičnost, suvremeni kompozitni materijali temelje se na metakrilatnim spojevima od kojih su najvažniji oni sa dvije metakrilatne skupine,

dimetakrilati, a izbor optimalne kombinacije monomera (metakrilata) vrlo je bitan za završna svojstva kompozitnog materijala (11).

Organski dio kompozita određuje fizikalno-kemijske osobine kompozitnog materijala: reaktivnost/stupanj polimerizacije, polimerizacijsko skupljanje, viskoznost, refraktivni indeks, apsorpcija vode i topljivost.

Dvije su osnovne organske komponente koje čine sastav kompozitnih materijala : bisfenol-a-glicidil-metakrilat (Bis-GMA) i UDMA (uretan-dimetakrilat).

a) Bisfenol-A-glicidil metakrilat (Bis-GMA) aromatski je metakrilat, na kojem se temelji većina kompozita, otkrio je Bowen 1960. godine. Dug je i rigidan, ima 2 benzenska prstena te se također sastoji od brojnih hidroksilnih skupina (OH) međusobno povezanih vodikovim vezama (Slika 1). Takve veze pridonose visokoj viskoznosti koja je glavni nedostatak BiS-GMA monomera (12). Osim visoke viskoznosti, nedostatak BiS-GMA je i upitna stabilnost boje. Kako bi se smanjila viskoznost, te da bi se dobila konzistencija materijala u koju je moguće inkorporirati ostale komponente, dodaju se niskoviskozni, manji, ali fleksibilni monomeri –TEGDMA (trietilenglikol -dimetakrilat) i EGDMA (etilenglikol-dimetakrilat). Osim što smanjuju viskoznost Bis-GMA, povećavaju unakrsno povezivanje monomera te konačnu čvrstoću (13).

Slika 1. Prikaz kemijske strukture BiS-GMA

Osim navedenih, kao modifikatori viskoznosti, dolaze i Bis-EMA (bisfenol-A-etil metakrilat), DEGDMA (dietilenglikol-dimetakrilat), MMA (metil-metakrilat), MAA (metakrilna kiselina) (14).

Što je veći udio TEGDMA monomera , a manji udio BiS-GMA u polimernoj smjesi, to je veći stupanj konverzije, čime se stvara više križnih veza između monomera, što u konačnici rezultira većom čvrstoćom materijala. Veći udio TEGDMA-e uzrokuje i veće polimerizacijsko skupljanje (15).

TEGDMA ima molekularnu masu od 286,3 g/mol i dovodi do volumetrijskog polimerizacijskog skupljanja od 14, 5 %. (Slika 2.) U tipičnom omjeru kompoziti zasnovani na smolastoj matrici Bis-GMA /TEGDMA skupljaju se od 3 do 5 % te zahtijevaju slojevito postavljanje. Kako se viskoznost monomerne matrice smanjuje, moguće je postići veći udio čestica punila, što dovodi do smanjenja polimerizacijskog skupljanja (16).

Slika 2. Prikaz kemijske strukture TEGDMA

Struktura BiS-GMA se na različite načine mijenjala kako bi se modificirala njezina viskoznost i hidrofilnost:

1) supstitucijom eliminacije hidroksilne skupine i zamjena etoksi skupinom
2) stvaranjem tzv. etoksiliranog Bis-GMA kompozita (Bis-EMA ili EBPDMA) boljih svojstava za rukovanje i manje ljepljivosti

Polimerizacijsko skupljanje i stres u kompozitnih materijala pokušao se smanjiti dodatkom ekspandirajućih monomera spiroortokarbonata (SOC), no isto nije uspjelo zbog nekompatibilnosti istog sa ostalim monomerima u materijalu (17).

b) UDMA (uretan-dimetakrilat) druga je organska komponenta koja može biti u sastavu kompozitnih materijala umjesto Bis-GMA, a uveli su je 1974 Foster i Walker. Danas najviše kompozitnih materijala sadržava kombinaciju obiju osnovnih smola (18). Uretani su niz monomera koji inkorporiraju uretansku skupinu u osnovicu dimetakrilatne molekule i time osiguravaju žilavost i fleksibilnost osnovnom monomernom lancu, pritom ostvarujući poboljšani stupanj konverzije i tajnost materijala. Glavna prednost UDMA-e je niska viskoznost, premda ima molekularnu masu 470,6 g/mol, što olakšava dodavanje punila bez razrjeđivanja monomerom niske molekulske mase. Glavni nedostaci su visoko polimerizacijsko skupljanje (5 – 9%). Dolazi još i kao TUDMA –

tetrauretan-dimetakrilat, a istraživanja se nastavljaju s ciljem dobivanja oligomera dimetakrilata koji imaju još nešto nižu viskoznost (19).

Osim Bis-GMA i UDMA, primjenjuju se i drugi dimetakrilati visoke molekularne mase, najčešće bisfenol-A-etil-metakrilat ili etoksilirani bisfenol-A-dimetakrilat (Bis-EMA) (20).

Do danas niti jedan polimerizacijski sustav, osim onog zasnovanog na metakrilatima, nije postigao dugoročni uspjeh.

Općenito, što je manja molekulska masa monomera, stvara se veći broj kovalentnih veza u nastanku konačnog polimera.

Ipak postoje određene mane metakrilatne tehnologije su:

a) povećana vrijednost polimerizacijskog skupljanja, što je činjenica koja dovodi do razvoja monomera visoke molekulske mase;
b) egzotermna reakcija, uz porast temperature uzrokovan izvorom svjetlosti u dubokim kavitetima može dovesti do zagrijavanja pulpe;
c) alergijska reakcija, najčešće uzrokovana HEMA-om (Slika 3.) koja se rijetko nalazi u sastavu kompozitnih materijala (osim kod najnovijih samoadhezijskih kompozita), no nalazi se, zbog svoje hidrofobnosti i visoke sposobnosti difuzije u sastavu adhezijskih sustava (21).

Slika 3. Prikaz kemijske strukture HEMA

Kako bi se nadvladali problemi metakrilatne tehnologije, razvijaju se drugi sustavi , nastali u svrhu smanjivanja polimerizacijskog skupljanja:

a) ekspandirajući polimeri – temelje se na sustavima koji sadržavaju monomere s otvaranjem prstena (engl. *ring opening system*) – spiroortokarbonati koji se kao aditivi dodaju dimetakrilatima, a ekspandiraju pri polimerizaciji;
b) siloranski sustavi – zasnovani na epoksidnim smolama, usmjereni na uporabu sustava s otvaranjem prstena, kao što su smole bazirane na oksiranu koje polimeriziraju pod utjecajem vidljivog svjetla, neki su eksperimentirali i sa dodavanjem tetraoksaspiroundekana (TOSU) u siloranske sustave, što je dovelo do smanjenja mehaničkih svojstava;
c) ormoceri – nova skupina materijala, tzv. organski modificirana keramika-trodimenzionalno umrežen anorgansko-organski polimer koji se sastoji od multifunkcionalnog uretana i tioetermetakrilat alkoksisilana kao sol-gel prekursora;
d) modificirana uretanska dimetakrilatna smola – sastoji se od dugačke rigidne jezgre s fleksibilnim bočnim granama te nižim brojem dvostrukih C-C veza;
e) dimer dimetilakrilati temeljeni na kiselini – niže viskoznosti, monomeri su izvedeni iz jezgre temeljeni na hidrogeniranoj dimernoj kiselini, derivatu linoleinske kiseline, polinezasićene masne kiseline
f) triciklodekan – uretan rigidne strukture, što rezultira povoljnim polimerizacijskim ponašanjem;
g) tekući kompoziti koji sadržavaju adhezijske monomere, temelje se na metakrilatnim sustavima, ali uključuju kisele monomere tipične za adhezijske sustave kao što je glicerol fosfat dimetakrilat (GPDM) (22).

Osim samoadherirajućih svojstava, od optimalnog univerzalnog kompozitnog materijala očekuju se antibakterijska svojstva i remineralizacijska svojstva što je jedan od glavnih ciljeva istraživanja, no materijali danas na raspolaganju ne posjeduju ista, a samo nekolicina ih posjeduje skromna remineralizacijska svojstva (23).

1. ANORGANSKE ČESTICE PUNILA

Anorgansko punilo smjesa je relativno inertnih anorganskih materijala. Sastav anorganskog punila čine različite tvari kao što su kristalinični kvarc odnosno silicijev dioksid (SiO_2), pirogeni koloidni silicijev dioksid -inertan spoj koji pridonosi boljoj poliranosti materijala, zatim aluminosilikati barija, stroncija, litija, cirkonija i kositra, barijev sulfat, borosilikatno staklo, te itrijev i iterbijev trifluorid koji imaju svojstvo otpuštanja fluora čime se ojačava tvrdo zubno

tkivo. U 1970-im godinama najčešće rabljeno punilo bio je kvarc. Anorgansko punilo odgovorno je za optička i fizička svojstva, koja su određena njegovom količinom. Veći postotak punila podrazumijeva i bolja fizička svojstva kompozitnog materijala. Anorgansko punilo može biti izraženo u volumnom ili težinskom dijelu, češće se koristi težinski (24).

Sastav anorganskog punila utječe i na translucenciju, opalescenciju i radiopacitet, smanjuje koeficijent toplinske ekspanzije te polimerizacijsko skupljanje pa na taj način materijal čini tvrdim i čvrstim.

Veličina čestice punila utječe na stupanj poliranosti materijala i posljedično stabilnost boje (što su čestice manjeg promjera, bolja je poliranost i sjaj površinskog sloja) (25).

S obzirom na veličinu čestica anorganskog punila postoje sljedeći kompozitni materijali:

1. makropunjeni – količina punila čini 60 – 70 % mase, uglavnom su sadržavali velike mljevene čestice kvarca koji je kemijski inertan i tvrđi od većine punila, ima dobru otpornost na trošenje, ali takvi kompoziti se teško poliraju;
2. mikropunjeni – količina punila čini 30 – 50 % mase, uobičajeno se sastoje od čestica silicijeva dioksida srednjeg promjera manjeg od 0,01mikrometra ;
3. submikronski hibridni – količina punila 75 – 85 % mase, veličina čestica manja je od mikrometra, zadovoljavaju kriterije estetike, čvrstoće i tvrdoće pa su zbog toga univerzalni i mogu rabiti u svim situacijama (26).

Optimalnim izborom čestica punila smanjuje se trošenje kompozita i omogućuju karakteristike slične prirodnom zubu te ako se veličina, oblik i refrakcijski indeksi punila podudaraju s monomerom, takve je visokoestetske kompozitne ispune teško razlikovati od prirodnog zuba.

Osim samog sastava punila, vrlo je važna njihova:

a) veličina – veće čestice otpornije su na habanje/trošenje od malih;
b) oblik – utječe na trošenje jer nepravilnije čestice otpornije su od kuglastih;
c) silanizacija površine – između polimerne matrice i punila osigurava dobru čvrstoću i otpornost kompozita na trošenje; (27)

Punila najčešće dijelimo prema veličini čestica na makro (10 – 100 mikrometra), mikro (0,01 – 0,1 mikrometra), midi (1 – 10 mikrometra), mini (0,1 – 1 mikrometra), nano (0,005 – 0,01 mikrometra); te po kemijskom sastavu (utječe na kontrolu različitih svojstava materijala) (28).

Amorfni silicijev dioksid počeo se kao anorgansko punilo upotrebljavati 1977. godine. Čestice punila su kuglaste no zbog velike površine zahtijevaju velik udio monomera, tako da ti kompoziti sadržavaju manje od 10% punila.

Staklena punila nastaju taljenjem čistog kvarca odnosno silicijevog dioksida ili mješavinama silicijevog dioksida, aluminijevog oksida, barijevog oksida i dodatnim metalnim oksidima različitih sastava i mljevenjem do željene veličine čestica, a količina određenog elementa znatno utječe na svojstva kompozita.

Kuglasti miješani oksidi veličine čestica od nekoliko nanometara do nekoliko mikrometara, nastaju gel postupkom. Najčešća kombinacija oksida u dentalnom kompozitu je SiO_2-ZnO_2. Cirkonijev oksid odgovoran je za tvrdoću i čvrstoću, a silicijev dioksid osigurava kemijsko vezivanje s monomerom i hidrofobizaciju površine pomoću silanizacije.

Prepolimerizirane čestice punila opisuju se kao kompozit unutar kompozita. Zbog većeg udjela punila te niže gustoće smanjeno je polimerizacijsko skupljanje kompozita (29).

3. SVEZUJUĆE SREDSTVO

Svezujuće sredstvo spaja punilo i organsku matricu te mu je funkcija osiguravanje stabilne veze između istih.

Organska matrica i punilo mogu biti vezani mehanički i kemijski. Kemijska veza je trajnija, a postiže se uz pomoć silana (30).

4. OSTALE KOMPONENTE

1) INICIJATORI POLIMERIZACIJE

Kod kemijski stvrdnjavajućih kompozitnih materijala do aktivacije monomerne molekule dolazi pomoću kemijskih tvari koje međusobnom reakcijom oslobađaju slobodne radikale. Najčešće su to benzoil peroksid i tercijarni amini (*N,N dimetil p toulidin i N,N dihidroksietil p toulidin*) – ubrzavaju dekompoziciju benzoil-peroksida na slobodne radikale koji iniciraju proces polimerizacije vrlo kompleksnim mehanizmom prijenosa elektrona na peroksid od nesparenog dušikovog atoma. Premda su do sada mnogi amini upotrebljavani kao akceleratori, samo su neki od njih uspjeli donekle zadovoljiti estetskim i biokompatibilnim zahtjevima.

Mnogi autori (Bowen i Argentar 1971., Brauer i sur. 1979., Antoucci i Toth 1981.) smatraju da će redukcija u koncentraciji akceleratora dovesti do znatnijeg poboljšanja u stabilnosti boje, a isto tako i znatno smanjiti toksičnost kompozitnih materijala na biološko tkivo zuba (31).

Kod svjetlosno-polimerizirajućih kompozita izvor svjetlosti ekscitira diketon-fotoaktivator, kao što je kamforkinon (sa maksimumom apsorpcije pri 468 nm) koji potom reagira s tercijarnim aminom alifatskim aminom, kao što je *N,N dimetil aminoetil metakrilat*. Tako započinje slobodnoradikalna reakcija.

Ostali fotoinicijatori koji se nalaze u suvremenim kompozitnim materijalima manje su žuti fotoinicijatori s nižim maksimumom apsorpcije primjerice *fenil-propadion* (PPD) maksimalne apsorpcije pri 410 nm, *lutricin TPO* maksimalne apsorpcije pri 385 nm i *Irgacure* maksimalne apsorpcije pri 397 nm).

Novije studije ističu važnost uporabe dodatnog fotoinicijatora kao što je OPPI *(p-oktiloksi-fenil-fenil jod heksaflouoroantimonat)* s obzirom na to da je pokazao dobre eksperimentalne rezultate.

2) INHIBITORI POLIMERIZACIJE

Inhibitori polimerizacije sprečavaju sponatnu polimerizaciju metakrilatnih monomera. Inhibitori polimerizacije su *monometil-eter* ili *hidrokinon* koji uzrokuje diskoloraciju pa se umjesto njega mogu upotrijebiti butilirani hidroksitoulen ili inhibitor fenolnog tipa 4 *metoksifenol* ili *p-metoksifenol* (PMP).

3) STABILIZATORI su tvari koje se dodaju kompozitnim materijalima radi stabilnosti boje apsorpcijom elektromagnetskog zračenja koje može uzrokovati diskoloraciju

a) Kod kemijskih polimerizirajućih kompozita kao stabilizatori rabe se benzofenoni, benzoatriazoli i fenilsalicilati
b) Kod svjetlosno polimerizirajućih mogu inhibirati polimerizaciju.

4) PIGMENTI

Pigmenti, organski i anorganski, dodaju se kompozitnim materijalima radi postizanja različith nijanse kompozitnih materijala, a najčešće se upotrebljavaju metalni oksidi (32).

1.3. Svojstva kompozitnih materijala

Svojstva kompozitnih materijala od iznimne su važnosti zbog njihove velike i široke primjene u usnoj šupljini te očuvanju zubne strukture općenito (33).

Kako bi navedeni zahtjevi bili ostvareni, fizikalno mehanička i optička svojstva kompozitnih materijala danas su na visokoj razini te se ne mogu promatrati odvojeno od adhezijskih sustava jer zajedno čine nedjeljivu cjelinu koja omogućuje dugotrajnu vezu cakline i dentina (34).

Na svojstva kompozita u većoj ili manjoj mjeri može utjecati organska ili anorganska komponenta kompozitnog materijala.

Fizikalno-mehanička svojstva: zbog promjenjivosti uvjeta u usnoj šupljini (prilagodba promjeni temperature te pH vrijednosti) kompozitni materijali moraju imati odgovarajuća svojstva:

Tvrdoća je otpornost materijala na prodiranje drugog znatno tvrđeg tijela, teško ju je definirati zbog složenosti naprezanja u materijalu koji se testira aplikacijom sile s različitim rezultatima. Najprihvatljivija definicija je relativan otpor na indentaciju tj. otpornost koju materijal pruža pri utiskivanju drugog materijala. Tvrdoća se može mjeriti na različite načine, a najčešći su postupci prema Knoopu, Vickersu, Brinellu, Rockwellu i Shoreu (35).

Mehanička svojstva poput tvrdoće, čvrstoće i elastičnosti moraju biti što viša, a poželjne su što manje vrijednosti trošenja toplinske i električne provodljivosti, polimerizacijskog skupljanja te toplinskog širenja (36).

Fizikalna svojstva kompozitnih materijala uvelike ovise o količini i veličini čestica anorganskog punila. Što je veći težinski udio anorganskog punila, to su bolja svojstva kompozitnog materijala. Meke čestice punila, poput barijevog stakla, rabe se umjesto silicijevog dioksida što omogućava česticama punila da apsorbiraju više žvačnog stresa. Što su čestice anorganskog punila veće, veća je otpornost na žvačne sile, ali je slabija poliranost i estetika pa se stoga kompozitni materijal s mikropunilima preporučuje za slučajeve gdje je nužna visoka estetika i poliranost materijala, a smanjen okluzijski stres (37).

Vezna čvrstoća (engl.*bond strenght*) između adheziva i kompozitnih materijala s tvrdim zubnim tkivima je iznimno bitna. Iz tog svojstva proizlaze i klinička svojstva: dubina stvrdnjavanja (mjerljiva i prema stupnju polimerizacije), radioopacitet, trošenje, biokompatibilnost i rukovanje materijalom (38).

Na mnoga fizikalno-mehanička svojstva utječu sljedeći čimbenici:

1. **Stupanj konverzije** označava udio dvostrukih veza metakrilatnog monomera koje su prilikom polimerizacije pretvorene u jednostruke. To je temeljni preduvjet za kliničku primjenjivost kompozitnog materijala jer određuje sva ostala svojstva – mehaničku otpornost, biokompatibilnost i trajnost restauracije.

Određuje se infracrvenom spektroskopijom s Fourierovom transformacijom ili Raman spektoskopijom (za višestruka mjerenja na istim uzorcima) kojom se dobiva informacija o stupnju konverzije na različitim udaljenostima od izvora polimerizacijske svjetlosti (39).

Ovisan je o nekoliko čimbenika uključujući postotni udio anorganskog punila i veličinu čestice punila. Što je veći udio anorganskog punila, veći je i stupanj konverzije. Što je manja veličina čestica punila, to je manji stupanj konverzije vjerovatno zbog raspršenja svjetla na površini malih čestica punila što smanjuje intenzitet svjetla (40).

Stupanj konverzije kompozitnih materijala koji sadrže Bis-GMA ovisan je o količini TEGDMA. Što je veća koncentracija TEGDMA, veći je stupanj konverzije, najvjerojatnije zbog toga što TEGDMA povećava mobilnost molekula, a time i njihovu reaktivnost (41).

Maksimalne vrijednosti stupnja konverzije su od 50 – 80 %, što znači da otprilike 20 – 50 % dvostrukih veza nakon polimerizacije ostane neiskorišteno. Svaka molekula metakrilatnog monomera ima po dvije dvostruke C=C veze, a za povezivanje s polimernom mrežom dovoljno je da reagira samo jedna C=C veza. Međutim, neutrošenost druge C=C veze ne znači nužno da je molekula monomera ostala slobodna (tj. da nije uključena u mrežu), stoga se stupanj konverzije ne može poistovjetiti sa stupnjem konverzije monomera, koji je redovito znatno veći. Smatra se da se samo 5 – 10 % od ukupne količine neiskorištenih C=C veza nalazi u slobodnim molekulama metakrilata koje ostaju u polimernoj mreži kao zaostatni monomer i mogu posredstvom vodenog medija biti isprane u usnu šupljinu te dovesti do mogućih toksičnih učinaka.

Rastom stupnja konverzije rastu tlačna i vlačna snaga, čvrstoća te raste i otpornost na lom (42).

2. **Biokompatibilnost** je sposobnost materijala da u dodiru sa živim tkivom u kojem se nalazi (usna šupljina) ne izaziva oštećenje tkiva. Suvremeni kompozitni materijali ne bi smjeli izazivati sistemnu toksičnost, lokalne i alergijske reakcije te samim time oštećenje tkiva (43).

Kompozitni materijali mogu imati i „neželjena“ svojstva, a to su toplinska ekspanzija i polimerizacijsko skupljanje (44).

Kompozitni materijali imaju 2 – 6 puta veći koeficijent toplinske ekspanzije, ovisno o veličini čestica punila od zuba tj. kompozitni materijali skupljaju se i šire više od zubne strukture što dovodi do gubitka adhezije i mikropropuštanja,a suvremeni poboljšani adhezijski sustavi kompenziraju taj nedostatak (45).

Polimerizacijsko skupljanje kompozitnog materijala uzrokovano je skupljanjem monomera u polimer. Varira od 1,6 do 5,7 %, a definira se kao omjer dužine ili volumena i početnih vrijednosti. Ovisi o mnogo čimbenika, poput broja dvostrukih veza, stupnja konverzije i prosječnoj molekulskoj težini monomera. Da bi se izbjeglo polimerizacijsko skupljanje kod izrade kompozitnih ispuna, pogotovo velikih kaviteta, potrebno je postavljati kompozitni materijal u slojevima koje spajaju nasuprotne stijenke kaviteta te se tako izbjegavaju kohezijske i adhezijske frakture, rubna pukotina, diskoloracija ispuna i nastanak sekundarnog karijesa te postoperativna osjetljivost zuba (46).

Polimerizacijsko skupljanje može biti:

1. slobodno skupljanje – kompozitni materijal ne leži na čvrstoj površini, skuplja se prema svom središtu i ne dolazi do stvaranja stresa ;
2. efektivno skupljanje – ako je kompozitni materijal pričvršćen za samo jednu čvrstu površinu, na skupljanje će utjecati novostvoreni granični uvjeti i neće se razviti gotovo nikakav stres jer će gubitak vremena biti kompenziran skupljanjem naspram površini svezivanja;
3. skupljanje između stijenki kaviteta – stezanjem materijala između suprotnih stijenki dolazi do naprezanja odnosno stresa jer se materijal steže prema središtu, a istodobno je vezan na stijenke kaviteta adhezijskim vezama. Ako naprezanje prekorači snagu adhezijske veze, dolazi do njena kidanja te pojave rubne pukotine s mikropropuštanjem.

Ukoliko je snaga adhezije kompozitnog materijala i tvrdog zubnog tkiva jača nego stres, gubitak volumena kompenzira se na drugi način, odnosno, dolazi do nastanka kohezijskih fraktura u samom materijalu, dentinu ili caklini (47).

Kako bi se polimerizacijski stres sveo na minimum, kompozitni materijal stavlja se u kavitet u slojevima koji spajaju nasuprotne stijenke kaviteta, upotrebljajavaju se niskoskupljaući materijali, fleksibilni smolasti lajneri te modificirani protokoli osvjetljavanja.

Optička svojstva – translucencija i opalecencija.

Postoje različite nijanse kompozitnih materijala: dentinske boje (dentin-dentinska, opaque-opakna, body-osnovna), caklinske boje (enamel-caklinska) te translucentne boje (incizijska,translucentna) (48).

1.4. Podjela kompozitnih materijala

Postoje mnogobrojne klasifikacije kompozitnih materijala:

1. Tradicionalna podjela prema veličini čestica punila, prema Lutzu i Philipsu iz 1983. godine

- makropunjeni (tradicionalni, konvencionalni) kompozitni materijali
- mikropunjeni kompozitni materijali (homogeni, heterogeni)
- hibridni (49).

Makropunjeni sadržavaju relativno velike čestice kvarca i staklenog punila veličine 0,1 do 100 mikrometra. Prije su imali u sastavu krhotinaste anorganske čestice kvarca, stakla, borosilikata, barij sulfata i keramike dobivene mljevenjem ili drobljenjem nepravilnog izgleda i oštrih rubova prosječne veličine od 15 – 100 mikrometra. U novije vrijeme kompoziti imaju prosječnu veličinu čestica od 1 – 10 mikrometra, a sadržavaju i 1 – 3 % mikropunila kao stabilizator. Njihovo dobro svojstvo je visoka punjenost organske matrice (oko 75 % mase) što daje dobru tvrdoću i mogućnost primjene u posteriornoj regiji, no njihov najveći nedostatak je što se jako teško poliraju te su skloni nastanku obojenjima (50).

Mikropunjeni kompozitni materijali razvili su se 1980. godine kako bi se prevladali nedostaci makropunjenih kompozita. Njihovo anorgansko punilo na bazi je sferičnog pirogenog silicijeva dioksida isključivo submikronske veličine (0,01 do 0,1 mikrometra). Čestice su male, zaobljene i ravnomjerno raspoređene u organskoj matrici što osigurava trajnost, bolje rukovanje, radiolucentnost, finu obradu i poliranost te je time omogućena bolji estetski izgled ispuna. Polimerizacijsko skupljanje im je veće pa im se dodaju prepolimerizirane čestice kako bi se poboljšala mehanička svojstva (51).

Homogeni kompozitni materijali s mikropunilom – anorgansko punilo sastoji se isključivo od pirogenog silicijevog dioksida koji se ravnomjerno ubacuje u organsku matricu. Dimenzije njegovih čestica manje su od valne duljine vidljivog svjetla pa se dobiva vizualno homogena

površina koja se može izvrsno polirati. Površinska oštećenja nastala zbog mehaničkog i kemijskog trošenja nisu optički vidljiva.

Heterogeni kompozitni materijali s mikropunilom – u svrhu ostvarivanja boljeg udjela punila ti su materijali rezultat kombiniranja razlomljenih, aglomeriranih i kuglastih prepolimeriziranih čestica punila s čistim mikropunilom, najčešće se rabe oni s razlomljenim prepolimeriziranim česticama jer osiguravaju povećanje anorganskog udjela i volumetrijskog udjela punila bez porasta viskoznosti uz zadržano dobro rukovanje, ti materijali imaju iznimnu estetiku, ali i dobru otpornost na trošenje.

Hibridni kompozitni materijali – pojavili su se krajem 80-tih godina prošlog stoljeća, kombinacija su konvencionalne i mikrotehnologije. Mogu se upotrebljavati u nadoknadi tvrdih zubnih tkiva kod frontalnih i lateralnih zuba (52).

2. Suvremena podjela prema veličini čestica punila:

   a) Makro – danas se više ne upotrebljavaju;
   b) Mikro
   c) Hibridni – mikrohibridni
   d) Kompozitni materijali s nanopunilom – najnovija skupina, razvijena s namjerom daljnjeg unapređenja

Kompozitni materijali s nanopunilom uključuju čestice manje od 100 nm koje zbog vrlo malih dimenzija posjeduju izrazito veliku specifičnu površinu.

Mikro i nano hibridi imaju vrlo slična svojstva pa ih je teško razlučiti. Mikropunila, uglavnom silicijev dioksid s primarnim česticama manjim od 100 nm nastaju hidrolizom u plinovitoj fazi i pojavljuju se u obliku agregata. Nova nanopunila nastaju sol gel postupkom u tekućoj fazi i ne spajaju se i ne nakupljaju (agregiraju i aglomeriraju) pa odnos površine čestica i monomera dopušta i da niskoviskozni adhezivi budu punjeni bez znatnije promjene viskoznosti. U otapalima ili monomerima te čestice ostaju samostalne, ali ako se osuše, aglomeriraju bez mogućnosti daljnjeg razdvajanja i ponašaju se kao mikropunila (53).

3. Podjela prema kliničkoj primjeni:

   a) Pečatni ispuni – tekuće kompozitne smole s niskim udjelom punila, nanose se nakon poliranja okluzalne plohe četkicom i pastom te jetkanja cakline, bez aplikacije adheziva.

b) Visoko viskozni kompozitni materijali za direktne ispune – upotrebljavaju se za izradu ispuna kod frontalnih i lateralnih zuba. Kompozitni materijali za ispune kod frontalnih zuba sadržavaju mikropunilo zbog bolje estetike i slabijeg žvačnog pritiska kod prednjih zuba, dok su materijali namjenjeni za primjenu kod lateralnih zuba obično hibridni s boljim mehaničkim svojstvima jer su u stražnjem segmentu veće žvačne sile.

c) Tekući kompoziti – karakterizira ih niži udio anorganskog punila, niska viskoznost te niži modul elastičnosti. Nisu pogodni za rekonstrukcije u području visokog žvačnog tlaka. Preporučuju se za kavitete V. i III. razreda, za minimalno invazivne preparacije te kao podloga ili liner gdje djeluju kao elastični amortizirajući sloj koji smanjuje naprezanje nastalo djelovanjem okluzijskog opterećenja.

d) Debeloslojni (engl.*bulk fill*) kompozitni materijali – bit će opisani na kraju poglavlja.

e) Laboratorijski – upotrebljavaju se za izradu krunica, inlaya, ljuskica i bezmetalnih mostova.

f) Kompozitne nadogradnje – upotrebljavaju se kad je potrebno nadoknaditi izgubljeno zubno tkivo koje će biti podloga za trajni fiksnoprotetski rad

g) Kompoziti kao privremeni ispuni u međufazama određenih radova u usnoj šupljini

h) Kompoziti temeljeni na siloranu – siloranska baza je biokompatibilna, hidrofobna i manje sklona kontrakciji, a prilikom polimerizacije silorana dolazi do otvaranja prstena čime se dobiva volumen koji kompenzira smanjenje volumena koje nastaje približavanjem molekula silorana. Taj materijal ima volumnu kontrakciju manju od 1 %, rabe se za ispune u stražnjem segmentu.

i) Kompomer (kombinacija kompozitnog materijala i staklenoionomernog cementa). Materijal posjeduje poliakrilne, polikarboksilatne kiseline i monomer kao i čestice fluoroaminosilikatnog stakla veličine 0,2 – 10 mikrometra. Kompomeri otpuštaju fluoride, a za retenciju na tvrda zubna tkiva trebaju poseban adhezijski sustav. Upotrebljavaju se za izradu manjih ispuna.

j) Ormoceri – osim organskog posjeduju i anorganski matriks. Monomeri su bolje uključeni u sastav matriksa pri čemu se smanjuje njihovo naknadno otpuštanje. Sastoje se od tri komponente: organskih i anorganskih dijelova i polisiloksana (54).

4. Podjela prema konzistenciji/viskoznosti (prethodno opisani)

a) pečatni ispuni

b) kompozitni materijali visoke viskoznosti

c) tekući kompoziti (55).

5. Podjela prema boji i transparentnosti:

a) dentinske boje – opakne, neprozirne poput dentina;
b) caklinske boje – posjeduju translucentnost cakline;
c) transparentne boje – za incizalne bridove i vrhove kvržica;
d) cervikalne boje – za ogoljene zubne vratove (cervikalni defekti – V. razred – postoje čak i u ružičastoj boji gingive);
e) posebne boje – pigmenti (56).

6. Podjela prema broju komponenti/načinu polimerizacije:

a) Dvokomponentni sustavi – polimeriziraju kemijskim putem, mogu biti u različitom sastavu (pasta-pasta, pasta-tekućina, prah-tekućina). Obje komponente sadržavaju smjesu organskog i anorganskog dijela. Jedna komponenta sadržava oko 0,5 % inicijatora (benzoil-peroksid), a druga komponenta sadržava oko 1 % aktivatora (aromatični tercijalni amini). Miješanjem dviju smjesa započinje polimerizacija koja završava u kavitetu nakon 4 – 5 minuta, prema nekim autorima i do 8 min, što je najveći nedostatak. Danas se rabe isključivo za izradu nadogradnji/bataljaka, a za izradu izravnih restauracija su gotovo napušteni.
b) Jednokomponentni sustavi – oni koji se stvrdnjavaju svjetlosnim putem, razvili su se 70-ih godina 20. stoljeća. Sadrže brojne prednosti u odnosu na dvokomponentne sustave. Stvrdnjavaju se konverzijom molekula monomera u makromolekule polimera umrežavanjem (engl.*cross linking*) stvarajući mrežu u koju se uklješte čestice anorganskog punila. Prvotni jednokomponentni sustavi stvrdnjavali su se pomoću ultraljubičastog svjetla koje se više ne rabi zbog brojnih nedostataka primjerice materijal nije mogao biti polimeriziran u odgovarajućem sloju te zbog štetnosti za oči terapeuta i asistenta. Danas se koriste svjetlosni aktivatori polimerizacije utemeljeni na vidljivoj svjetlosti. Pod djelovanjem vidljivog svjetla valne duljine 400 i 500 nm s maksimumom apsorpcije pri 468 nm najčešće rabljeni fotoinicijator kamforkinon prelazi u pobuđeno stanje i reagira sa *N,N dimetil aminoetil metakrilatom* stvarajući kompleks pobuđenog stanja koji se raspada i formira slobodne radikale čime se inicira proces polimerizacije, a čine je tri stadija: inicijacija, propagacija i terminacija. Osim

kamforkinona, za svjetlosnu aktivaciju polimerizacije upotrebljavaju se i fenilpropandion, *Lucirin TPO* i *Irgacur*e 819. Prisutni su i inhibitori kako bi održali stabilnost na svjetlu (57).

7. Podjela prema djelovanju na zubno tkivo:

   a) Eksperimentalni kompozitni materijali temeljeni na amorfnom kalcijevom fosfatu razvili su se zbog potrebe prevladavanja loših svojstava kompozitnih materijala kao što je mikropropuštanje zbog polimerizacijskog skupljanja te nastanak sekundarnog karijesa. Otpuštaju kalcijeve i fosfatne ione u uvjetima nižeg pH. Sadržavaju punilo od amorfnog kalcijeva fosfata (engl.*amorphous calcium phosphate* – ACP) koji se u vodenom mediju kristalizira u hidroksiapatit i pritom otpušta navedene ione, što omogućuje remineralizaciju okolnih tvrdih zubnih tkiva. Pokazuju izrazito visok stupanj konverzije, što ukazuje na bolju biokompatibilnost materijala, no kliničku primjenu ograničavaju im slaba mehanička svojstva. Ta loša mehanička svojstva posljedica su njihove specifične strukture i reakcija koje se zbivaju unutar materijala pri izlaganju vodenom mediju. Mehanička svojstva mogu se poboljšati dodatkom silaniziranih punila (čestice barija i silicija). Za daljnji razvoj ovih obećavajućih bioaktivnih materijala potrebno je bolje razumijevanje njihovih svojstava.

   b) Eksperimentalni kompozitni materijali s punilom bioaktivnog stakla – u restaurativnoj dentalnoj medicini bioaktivna stakla imaju potencijalnu primjenu kao punila kompozitnih materijala. Eksperimentalni kompoziti s bioaktivnim staklom u laboratorijskim istraživanjima pokazuju potencijal za remineralizaciju tvrdih zubnih tkiva posredstvom kalcijevih i fosfatnih iona, a rast kristala hidroksiapatita na površini restauracije pridonosi brtvljenju mikropukotina nastale zbog polimerizacijskog skupljanja. Oba učinka teoretski omogućuju prevenciju sekundarnog karijesa, a rezultati istraživanja *in vitro* podupiru tu pretpostavku. Dodatna je potencijalna dobrobit precipitacija hidroksiapatita unutar dentinskih kanalića koja dovodi do njihove obliteracije i smanjenja postoperativne preosjetljivosti, a otapanjem bioaktivnog stakla snižava se vrijednost pH u neposrednoj blizini ispuna što rezultira antibakterijskim učinkom. Nedostaci su im, također, slabija mehanička svojstva i ubrzana degradacija te će za njihovu možebitnu kliničku primjenu u budućnosti biti potrebna poboljšanja istih (58).

DEBELOSLOJNI (engl.*BULK FILL*) KOMPOZITNI MATERIJALI

Najvažnija karakteristika debeloslojnih kompozitnih materijala je mogućnost stavljanja materijala u kavitet u debljini od 4-5 mm što omogućuje poboljšana morfologija punila te sastav dimetakrilatne smole te nova monomerna tehnologija.

Njihovo svojstvo da se apliciraju u debelom sloju znači i povećana i pouzdana dubina polimerizacije, malo polimerizacijsko skupljanje, dobro prianjanje materijala uz rubove kaviteta, izvrsna fizička i mehanička svojstva, dobra otpornost na trošenje i žvačne sile te također omogućavanje brže izrade ispuna te ušteda vremena samom doktoru dentalne medicine.

Prema konzistenciji dijele se na visokoviskozne-krute (konvencionalni, pakirani u tubama ili kapsulama te pokretani strojno) i niskoviskozne-tekuće.

Upotrebljavaju se kod kaviteta prvog, drugog i šestog razreda, svjetlom se polimeriziraju 20 sekundi (LED polimerizacijskim svjetlom minimalne snage od 550 mW/cm^2).

Kod debeloslojnih materijala polimerizacijsko skupljanje je vrlo malo, svega 1,9 %. Inhibitori polimerizacije omogućavaju duže vrijeme manipuliranja, a fotoinicijatori u njihovu sastavu omogućuju polimerizaciju do dubine od 4 mm. Neki od njih su temeljeni na dibenzoil germanijevim derivatima koji su znatno reaktivniji od kamforkinona. Inicijatori zasnovani na germaniju (npr. *Ivocerin*) omogućuju bržu polimerizaciju i veću dubinu stvrdnjavanja.

Tekući debeloslojni materijali imaju manji polimerizacijski stres, upotrebljavaju se u debelom sloju od 4 mm, isključivo kao podloga te je potrebno da se na njih apliciraju kruti debeloslojni materijali otporni na žvačne sile (59).

2. SVRHA ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZE

2.1. Svrha istraživanja

Svrha rada bila je istražiti količinu otpuštenih komponenti (monomera) iz konvencionalnih (krutih i tekućih) te debeloslojnih (krutih i tekućih) kompozitnih materijala nakon polimerizacije metodom tekućinske kromatografije sa dvojnom spektrometrijom masa (LC-MS/MS) koji nakon polimerizacije mogu biti odgovorni za alergijska i genotoksična svojstva istih.

U istraživanju je upotrijebljeno ukupno 12 materijala (6 konvencionalnih i 6 debeloslojnih kompozitnih materijala). Od svakog materijala napravljeno je po 9 uzoraka koji su bili podjeljeni u 3 skupine po 3. Uzorci svakog od materijala su polimerizirani 20 sekundi prema uputama proizvođača i uronjeni u 5 mL 75 % otopine etanola te se otpuštanje monomera mjerilo nakon 24 sata, 7 dana i 28 dana.

Nakon mjerenja napravljena je analiza otpuštanja monomera kod svakog materijala te usporedba otpuštanja monomera između pojedine skupine materijala (konvencionalni i debeloslojni te kruti i tekući) unutar 24 sata, 7 dana i 28 dana.

2.2. Hipoteze istraživanja

Postavljene su sljedeće radne hipoteze:

1. nakon polimerizacije konvencionalnih i debeloslojnih kompozitnih materijala nema otpuštanja monomera u 75% otopinu etanola
2. nema razlike u otpuštanju monomera u 75% otopinu etanola između konvencionalnih i debeloslojnih krutih i tekućih kompozitnih materijala
3. nema razlike u otpuštanju monomera u 75 % otopinu etanola nakon 24 sata, 7 dana i 28 dana.

3. MATERIJALI I POSTUPCI

3.1. Materijali

U ovom istraživanju ispitano je ukupno 12 kompozitnih materijala:

- 6 konvencionalnih – *Gradia, Gradia Direct flo, Filtek Supreme, Filtek Supreme flow*, *TetricEvo Ceram, TetricEvo flow*;
- 6 debeloslojnih – *Tetric Evo Ceram Bulk Fill, Tetric EvoFlow Bulk Fill, Xtra fill*, *Filtek Bulk Fill, Filtek Bulk Fill flow i SDR* (Tablica 1).

3.2. Priprema uzoraka

Svaki od uzoraka pripremljen je stavljanjem navedenih kompozitnih materijala u teflonski kalup promjera 5 mm i debljine 2 mm, te je nakon aplikacije u kalup materijal prekriven celuloidnom matricom Mylar i polimeriziran prema standardnom protokolu 20 sekundi snagom 1200 mW/cm^2 pri valnoj duljini 380 – 515 nm. Za polimerizaciju korištena je Bluephase G2 lampa (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein). Uzorci su uronjeni u 5 mL otopine 75 % etanola na 37 °C. (Slika 4.) Nakon pohrane u tamnom prostoru uzorci su analizirani nakon 24 sata, 7 dana i 28 dana.

Slika 4. Shematski prikaz pripreme uzoraka

Za analizu uzoraka korišten je instrument tekućinski kromatograf (HPLC-Shimadzu LC20 Promimnce Series) spregnut sa dvojnom spektrometrijom masa (AB Sciex 3200 Qtrap-spektrometar masa). (Slika 5)

Slika 5. LC-MS/MS uređaj-tekućinski kromatograf (HPLC Shimadzu LC prominence Series) spregnut sa spektrometrijom masa (AB Sciex 3200 QTrap)

Potreban broj uzoraka (sample size) određen je upotrebom G* power programa na temelju razlike numeričkih vrijednosti varijabli i uz p vrijednost 0,05 te snagu 0,8.

Tablica 1. Specifikacije materijala korištenih u studiji

Ime	Proizvođač	Lot	Skraćenica	Sastav
Tetric EvoCeram Bulk Fill	Ivoclar Vivadent, (Schaan, Lichtenstein)	82O135539	TeCBf	BisGMA, Bis-EMA, UDMA
Tetric Evoflow Bulk Fill	Ivoclar Vivadent, (Schaan, Lichtenstein)	U34907	TefBf	BisGMA, BisEMA, UDMA
X-tra Fil	VOCO (Cuxhaven, Germany)	1438592l	Xf	BisGMA, TEGDMA, UDMA
Filtek Bulk Fill	3M ESPE (St.Paul, MN, USA)	N626709	Fbf	BisGMA, BisEMA, UDMA, Procrylatresin
Filtek Bulk Fill flow	3M ESPE (St.Paul, MN, USA)	N732765	Fbff	BisGMA, BisEMA, UDMA,Procrylatresin
SDR	DENTSPLY (Charlotte, NC, USA)	1610131	SDR	Modified UDMA, EBPADMA, TEGDMA
Gradia	GC (Tokyo, Japan)	1710312	G	UDMA, TEGDMA
Gradia Direct flo	GC (Tokyo, Japan)	1502041	GDf	UDMA, TEGDMA
Filtek Supreme	3M ESPE (St.Paul, MN, USA)	N763255	FS	BisGMA, TEGDMA, UDMA
Filtek Supreme flow	3M ESPE (St.Paul, MN, USA)	6033A2	Fsf	BisGMA, TEGDMA, UDMA
Tetric EvoCeram	Ivoclar Vivadent, (Schaan, Lichtenstein)	V16037	TeC	BisGMA, BisEMA, UDMA, TEGDMA
Tetric Evoflow	Ivoclar Vivadent, (Schaan, Lichtenstein)	V02622	Tcf	BisGMA, BisEMA, UDMA, TEGDMA

3.3. Mjerna tehnika

Tekućinska kromatografija (engl.*liquid chromatography*, LC) s dvojnom spektrometrijom masa (engl. *mass spectrometry*, MS) (LC-MS/MS) je tehnika izuzetne osjetljivosti, selektivnosti brzine i različitosti u primjeni. Kao dio vezanog sustava tekućinska kromatografija – spektrometrija masa, MS ionizacijskim tehnikama omogućeno je određivanje velikog broja analita različitih kemijskih karakteristika, dok se tekućinskom kromatografijom prethodno razdvajaju složene smjese i pojednostavljuje uzorak za MS analizu. Sama analiza spektrometrijom masa podrazumijeva odvajanje iona prema omjeru njihove mase i naboja(m/z). Spektrometri masa koji imaju mogućnost fragmentacijske analize (engl.*tandem* MS,kratica MS/MS) imaju mogućnost izolacije iona određene m/z te fragmentiranje i određivanje m/z iona fragmenata u drugom stupnju MS analize (dvojna ili tandem analiza). Jedna od takvih tehnika je i MRM (engl.*multiple reaction monitoring*). MRM analiza je način snimanja koji se najčešće koristi za određivanje koncentracije ciljanog analita. Tehnološka dostignuća omogućila su proširenje primjene MS na bioanalitičko područje (proteomika, lipidomika, metabolomika) te analizu raznovrsnih spojeva , droga, lijekova i metaboličkih produkata. Rutinski se primjenjuje u analizi zagađivala, biozagađivala, prirodnih spojeva, kontroli hrane, procesnoj kontroli, kliničkoj medicini, forenzici.

Ostala područja uključuju atomsku fiziku, reakcijsku kinetiku, geokronologiju, anorgansku kemijsku analizu, reakcije ion molekula, određivanje termodinamičkih parametara i mnoga druga.

LC-MS tehnologija se brzo razvijala radi novih ionizacijskih tehnika pri atmosferskom tlaku (engl. *atmospheric pressure*) koje omogućuju „prijelaz“ analita iz tekuće (LC) u plinovitu fazu unutar ionskog izvora (MS).

Radi visoke specifičnosti, selektivnosti i osjetljivosti koju kromatografskim tehnikama dodatno osiguravaju spektrometri masa MS u ulozi detektora , a posebno dvojna spektrometrija masa, razvijeno je mnoštvo metoda za analizi bioloških uzoraka.

Tako je moguće detektirati i kvantificirati analite u „teškim“ matricama poput složenih bioloških uzoraka koje nekim drugim kromatografskim metodama primjerice plinskom kromatografijom (engl.*gas chromatography* GC-MS) nije moguće analizirati (60,61,62).

LC-MS/MS je upotrijebljena u ovoj studiji kako bi se izmjerila količine otpuštenih monomera u ispitivanim materijalima.

Uzorci su pripremani na sljedeći način: 0,5 mL etanolnog ekstrakta je upareno do suhog u vakuum koncentratoru (Martin Christ, Osterode am Hanz; Njemačka), te su uzorci rekonstruirani u 100 µL metanola. Kvalitativna i kvantitativna analiza je napravljena koristeći LC-MS/MS (tekućinski kromatograf Shimadzu AC 20 spojen sa ABSciex 3200 Qtrap dvojnim spektrometrom masa).

Svi spojevi određeni su kvalitativno usporedbom spektara standarda tzv. Product ion (PI) spektara s dobivenim PI iz baze PI MS/MS („kućne“ izrade). Kvantitativna mjerenja TEGDMA, BiS-GMA, DMA BEE, HEMA i CQ rađena su koristeći kalibracijske krivulje.

Kalibracijske krivulje su konstruirane koristeći 6 različitih koncentracija analita (Eurachem Guide) rangiranih od 100 ng/mL-10000 ng/mL (CQ i DMA BEE), 1000 ng/mL-50 000 ng/mL (TEGDMA i BiS- GMA) i 100 ng/mL-20000 ng/mL (HEMA).

Analiti su kromatografski razdvojeni na Poroshell 120 EC-C18 HPLC koloni 2,1x100 mm 2,7 µm (Agilent Technologies) i 5 µL od uzorka je dodano putem autosamplera. Kolona je održavana na 40 °C.

Mobilna faza A pripremljena je mješanjem 63 mg amonijevog formijata i 1 mL mravlje kiseline u 999 mL vode dok je mobilna faza B metanol (LiChroslov). Razdvajanje je napravljeno stalnom brzinom protoka od 400 µL/min, 30 % od mobile faze B. Gradijentni protok započet je nakon 0,5 minuta do 100 % B nakon tri minute, izokratno do 37,5 minuta i potom vraćen na 30 % mobilne faze izokratno do kraja metode na 6,5 minuta.

Spektri masa dobiveni su MRM načinom snimanja za kvantifikaciju uz Solvent Blue 35 kao unutarnji standard. Odnos koncentracije i intenziteta signala dobiven je računanjem površine ispod pikova (signala) (Slika 6).

Slika 6. MRM kromatogram signala HEMA

Y os – intenzitet signala cps (engl. *counts per second)*

X os – vrijeme zadržavanja (RT, engl. *retention time*)

Prema površini ispod signala se određuje koncentracija (odnos površine monomera i površine internog standarda se stavlja na baždarni pravac te se određuje koncentracija)

Računati su postotci različitih polimera svake promatrane grupe.

Svaki je uzorak sniman jednom. Mjerenja su rađena nakon 24 sata, 7 dana i 28 dana.

3.4. Statističke metode

Podaci su prikupljeni u Microsoft Excel tablicama te je izračunata srednja vrijednost svakog mjerenja za svaki replikat i vremensku točku.

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost i standardna devijacija (SD). Statistička analiza i figure izrađeni su u Medcalc (v11.4, MedCalc Software bv, Ostende, Belgium) pProgramskom

paketu. Normalnost distribucije vrijednosti određena je Kolmogorov-Smirnov testom. Vrijednosti otpuštenih monomera uspoređene su ANOVA ili Kruskal Wallis testom ovisno o normalnosti distribucije te Friedman testom u slučaju uparenih vrijednosti. Pojedini parovi vrijednosti između 2 grupe uspoređeni su t-testom. P vrijednosti manje od 0,05 smatrane su statistički značajnima.

4. REZULTATI

Sveukupni rezultati pokazali su da je otpuštanje monomera u 75 % otopinu etanola iz svih kompozitnih uzoraka detektirano kroz sve vremenske periode (24 sata, 7 dana i 28 dana).

Glavne vrijednosti (iznosi) i standardne devijacije koncentracije svakog otpuštenog monomera iz svakog testiranog kompozitnog materijala u svakom od vremenskih perioda prikazane su u Tablici 2.

Tablica 2. Glavne vrijednosti i SD količine svakog otpuštenog monomera iz svakog testiranog materijala u svakom od tri vremenska perioda

Material	Category*	Compound	24h		7d		28d		
			Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	ANOVA**
Fbf	BHV	TEGDMA	25,9	(12,9)	43,7	(28,6)	33,2	(28,3)	0,685
		BisGMA	2,2	(0,5)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	**<0,001**
		DMABEE	1,0	(0,4)	2,6	(0,9)	3,5	(0,3)	**0,006**
		HEMA	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	NA
TecBf	BHV	TEGDMA	9,9	(13,9)	31,0	(13,7)	93,3	(66,5)	0,097
		BisGMA	3,8	(0,9)	6,8	(0,4)	7,3	(0,5)	**0,001**
		DMABEE	3,8	(0,0)	3,8	(0,0)	3,8	(0,0)	0,124
		HEMA	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	NA
Xf	BHV	TEGDMA	127,4	(98,2)	251,4	(33,3)	121,7	(63,1)	0,109
		BisGMA	5,0	(0,6)	6,8	(0,5)	5,7	(1,1)	0,082
		DMABEE	3,8	(0,0)	3,8	(0,0)	3,8	(0,0)	0,159
		HEMA	0,0	(0.0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	NA
Fbff	BLV	TEGDMA	2,2	(3,4)	14,8	(13,4)	1,4	(2,4)	0,154
		BisGMA	0,0	(0,0)	4,1	(0,7)	6,9	(2,1)	**0,002**
		DMA-BEE	1,5	(0,9)	2,7	(0,5)	4,6	(1,0)	**0,009**

		HEMA	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	NA
TefBf	BLV	TEGDMA	43,6	(41,1)	22,9	(23,5)	46.6	(25.3)	0.619
		BisGMA	7,9	(1,1)	12,1	(4,3)	14,5	(11,5)	0,552
		DMABEE	1,9	(0,3)	3,2	(1,2)	3,8	(3,2)	0,533
		HEMA	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	NA
SDR	BLV	TEGDMA	61,0	(3,7)	54,2	(16,2)	54,2	(15,3)	0,772
		BisGMA	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	NA
		DMABEE	0,8	(0,4)	1,9	(0,2)	2,0	(0,2)	**0,004**
		HEMA	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	NA
Fs	CHV	TEGDMA	191,1	(86,6)	239,6	(27,7)	128,3	(34,3)	0,127
		BisGMA	3,1	(2,2)	2,1	(1,2)	6,5	(6,3)	0,403
		DMABEE	3,8	(0,0)	3,8	(0,0)	3,8	(0,0)	0,234
		HEMA	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	NA
TeC	CHV	TEGDMA	65,9	(27,8)	29,7	(38,8)	4,5	(7,7)	0,091
		BisGMA	7,9	(0,7)	13,4	(1,1)	16,1	(1,8)	**0,001**
		DMABEE	1,3	(0,2)	2,5	(0,2)	3,4	(0,5)	**0,001**
		HEMA	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	NA
G	CHV	TEGDMA	55,3	(48,9)	109,2	(24,1)	98,9	(35,9)	0,255
		BisGMA	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	NA
		DMABEE	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,43
		HEMA	14,1	(1,6)	25,1	(4,0)	34,2	(10,0)	**0,022**
Fsf	CLV	TEGDMA	93,7	(99,3)	64,9	(4,0)	51,2	(6,0)	0,671
		BisGMA	6,6	(1,5)	4,2	(0,5)	4,0	(0,7)	**0,033**
		DMABEE	3,2	(0,7)	2,7	(0,6)	3,1	(0,3)	0,558

		HEMA	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	NA
Tcf	CLV	TEGDMA	59,2	(26,6)	175,6	(114,9)	202,8	(99,2)	0,192
		BisGMA	17,1	(2,7)	14,4	(2,7)	15,8	(1,6)	0,428
		DMABEE	4,1	(0,5)	4,5	(0,9)	5,0	(0,5)	0,343
		HEMA	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	NA
GDf	CLV	TEGDMA	131,8	(44,1)	85,6	(46,5)	75,1	(12,2)	0,227
		BisGMA	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	NA
		DMABEE	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,245
		HEMA	9,7	(1,1)	8,0	(0,4)	7,7	(0,5)	**0,036**

BHV – debeloslojni kruti kompozit, BLV – debeloslojni tekući, CHV – konvenconalni kruti, CLV – konvencionalni tekući.

DMA-BEE nađen je u svim analiziranim uzorcima, ali količina detektirana kod *Gradie* i *Gradia Direct flo* bila je ispod limita kvantifikacije (LOQ) metode te je smatrana nulom. Statistički značajna razlika nađena je između različitih vremenskih perioda kod materijala *FBf* p=0,006, *FbFf* p=0,002, *SDR* p=0,004 i *TEC* p=0,001.

U svim tim slučajevima došlo je do povećanja otpuštanja monomera u otopini.

BiS-GMA je pronađen u 9 od 12 materijala (Tablica 2). Statistički značajna razlika između vremenskih perioda nađena je kod *TeCBf* p=0,001, *FBFf* p=0,002, *TEC* p=0,033, *Fsf* i *Fbf* p<0,001.

Količina otpuštenog Bis-GMA povećavala se s vremenom kod uzoraka *TeCBf, FbFf* i *TEC*, a smanjivala kod uzoraka *Fsf* i *Fbf.*

Mjerljive količine HEMA pronađene su samo kod 2 od 12 materijala. Kod *Gradia* i *Gradia Direct flo* količina otpuštene kod HEMA u različitim vremenskim razdobljima bila je statistički različita, povećana kod otopine *Gradia* (od 14,1 + 1,6 do 34,2 +10; ANOVA p=0,002) te smanjena kod *Gradia Direct flo* (od 9,7+1,1 do 7.7+ 0,5; ANOVA p=0,036).

TEGDMA je pronađena kod svih 12 materijala, no nije bilo statistički značajne razlike kod ijednog materijala u različitim vremenskim razdobljima (Tablica 2.)

Kako bi se evaluirala razlika između konvencionalnih i debeloslojnih kompozitnih materijala, kroz sva tri vremenska perioda su uspoređene vrijednosti količine otpuštenih monomera između konvencionalnih i debeloslojnih materijala (Tablica 3.).

Tablica 3. Usporedba vrijednosti količine otpuštenih monomera između konvencionalnih i debeloslojnih materijala kroz tri vremenska perioda

	T1				**T7**				**T28**			
	Bulk fill		**Konvencionalni**		**Bulk fill**		**Konvencionalni**		**Bulk fill**		**Konvencionalni**	
	Mean	**SD**	**Mean**	**SD**	**Mean**	**SD**	**Mean**	**SD**	**Mean**	**SD**	**Mean**	**SD**
Bis-GMA	3,2	(2,9)	5,8	(6,2)	5,0	(4,6)	5,7	(6,3)	5,7	(6,5)	7,1	(7,2)
DMA-BEE	2,1	(1,3)	2,1	(1,8)	3,0	(0,9)	2,3	(1,8)	3,6	(1,4)	2,6	(2,0)
TEGDMA	45,0	(56,8)	99,5	(72,3)	69,7	(86,8)	117,4	(86,1)	58,4	(53,1)	93,5	(74,7)
HEMA	0,0	(0,0)	4,0	(5,9)	0,0	(0,0)	5,5	(9,6)	0,0	(0,0)	7,0	(13,3)
Total	**12,6**	**(33,6)**	**27,8**	**(54,8)**	**19,4**	**(51,6)**	**32,7**	**(65,1)**	**16,9**	**(35,7)**	**27,5**	**(53,5)**

ANOVA pokazuje da za BiS-GMA nema razlike u količini otpuštenih monomera među grupama (p=0,38), ali materijali imaju vremenske razlike (p=0,26). Isto je i za DMA BEE (p=0,208), vrijeme (p<0,001).

Druga dva monomera TEGDMA i HEMA su invertirani i pokazuju razlike među grupama (TEGDMA p=0,022; HEMA p=0,019), ali ne u vremenu (TEGDMA p=0,223; HEMA p=0,122). (Slika 7-10).

Slika 7. Prikaz usporedbe otpuštanja količine DMA BEE kod konvencionalnih i debeloslojnih kompozitnih materijala kroz 3 vremenska perioda

Slika 8. Prikaz usporedbe otpuštanja količine BiS-GMA kod konvencionalnih i debeloslojnih kompozitnih materijala kroz tri vremenska perioda

Slika 9. Prikaz usporedbe otpuštanja koncentracije HEMA kod konvencionalnih i debeloslojnih kompozitnih materijala kroz tri vremenska perioda

Slika 10. Prikaz usporedbe otpuštanja količine TEGDMA kod konvencionalnih i debeloslojnih kompozitnih materijala kroz tri vremenska perioda

Uspoređujući samo debeloslojne materijale (kruti i tekući), nisu uočene razlike u količinama otpuštenih spojeva BiS-GMA ni TEGDMA, niti u različitim vremenskim intervalima niti među grupama (Tablica 4.), dok s druge strane uočene su razlike u količinama otpuštenih DMA BEE u oba aspekta (grupe p= 0,042, vrijeme p=0,001). (Slike 11-18.)

Tablica 4. Usporedba količine otpuštenih monomera kod debeloslojnih materijala (kruti i tekući) kroz tri vremenska perioda

	T1				T7				T28			
	Kruti		tekući		Kruti		tekući		kruti		Tekući	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Bis-GMA	3,7	(1,4)	2,6	(4,0)	4,5	(3,4)	5,4	(5,8)	4,3	(3,4)	7,1	(8,6)
DMA-BEE	2,9	(1,4)	1,4	(0,7)	3,4	(0,8)	2,6	(0,8)	3,7	(0,2)	3,4	(2,0)
TEGDMA	54,4	(74,5)	35,6	(33,4)	108,7	(109,6)	30,7	(23,9)	82,7	(61,9)	34,1	(28,8)
HEMA	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)
Total	**15,2**	**(42,4)**	**9,9**	**(22,0)**	**29,2**	**(70,2)**	**9,7**	**(17,1)**	**22,7**	**(46,0)**	**11,2**	**(19,8)**

Slika 11. Prikaz usporedbe otpuštanja količine TEGDMA kod debeloslojnih krutih i tekućih kompozitnih materijala kroz tri vremenska perioda

Slika 12. Prikaz usporedbe otpuštanja količine TEGDMA kod debeloslojnih krutih i tekućih kompozitnih materijala kroz tri vremenska perioda

Slika 13. Prikaz usporedbe otpuštanja količine DMA BEE kod debeloslojnih krutih i tekućih kompozitnih materijala kroz tri vremenska perioda

Slika 14. Prikaz usporedbe otpuštanja količine DMA BEE kod debeloslojnih krutih i tekućih kompozitnih materijala kroz tri vremenska perioda

Slika 15. Prikaz usporedbe otpuštanja količine BiS-GMA kod debeloslojnih krutih i tekućih kompozitnih materijala kroz tri vremenska perioda

Slika 16. Prikaz usporedbe otpuštanja količine BiS-GMA kod debeloslojnih krutih i tekućih kompozitnih materijala kroz tri vremenska perioda

Slika 17. Prikaz usporedbe otpuštanja količine HEMA kod debeloslojnih krutih i tekućih kompozitnih materijala kroz tri vremenska perioda

Slika 18. Prikaz usporedbe otpuštanja količine HEMA kod debeloslojnih krutih i tekućih kompozitnih materijala kroz tri vremenska perioda

Kako bi se evaluirala razlika između konvencionalnih i debeloslojnih ili između krutih i tekućih kompozitnih materijala, otpuštene vrijednosti unutar 24 sata uspoređene su između svih vrsta materijala. Da bi se reducirala varijabilnost između pojedinih materijala, materijali istog proizvođača grupirani su kad je bilo moguće – *Filtek*, *Tetric* i drugi (Tablica 5.).

Tablica 5. Usporedba količine otpuštenih monomera kod konvencionalnih i debeloslojnih te krutih i tekućih kompozitnih materijala unutar 24 sata

Manufacturer andAnalyte	BHV		BLV		CHV		CLV		*t*-Test*p*Value			
	Mean	(SD)	Mean	(SD)	Mean	(SD)	Mean	(SD)	BHVvs. CHV	BLVvs. CLV	BHVvs.BLV	CHVvs. CLV
Filtek												
DMABEE	1,0	(0,4)	1,5	(0,9)	3,8	(0,0)	3,2	(0,7)	**0,006**	0,056	0,449	0,294
BisGMA	2,2	(0,5)	0,0	(0,0)	3,1	(2,2)	6,6	(1,5)	0,518	NA	NA	0,083
TEGDMA	25,9	(12,9)	2,2	(3,4)	191,1	(86,6)	93,7	(99,3)	0,082	0,252	**0,037**	0,269
HEMA	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	NA	NA	NA	NA
Tetric												
DMABEE	3,8	(0,0)	1,9	(0,3)	1,3	(0,2)	4,1	(0,5)	**0,001**	**0,003**	**0,008**	**0,001**
BisGMA	3,8	(0,9)	7,9	(1,1)	7,9	(0,7)	17,1	(2,7)	**0,003**	**0,005**	**0,007**	**0,004**
TEGDMA	9,9	(13,9)	43,6	(41,1)	65,9	(27,8)	59,2	(26,6)	**0,036**	0,611	0,249	0,779
HEMA	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	NA	NA	NA	NA
Other												
DMABEE	3,8	(0,0)	0,8	(0,4)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	NA	NA	**0,006**	NA
BisGMA	5,0	(0,6)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	NA	NA	NA	NA
TEGDMA	127,4	(98,2)	61,0	(3,7)	55,3	(48,9)	131,8	(44,1)	0,318	0,109	0,362	0,114
HEMA	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	14,1	(1,6)	9,7	(1,1)	NA	NA	NA	**0,018**

BHV – debeloslojni kruti, BLV – debeloslojni tekući, CHV – konvencionalni kruti, CLV – konvencionalni tekući.

Za *Filtek* materijale, uočena je statistički značajna razlika kod otpuštanja količine DMA BEE između debeloslojnih krutih (*Filtek Bulk fill*) i konvencionalnih krutih kompozitnih materijala (*Filtek Supreme*) – BHV vs. CHV; t-test p=0,006.

Razlika između debeloslojnih tekućih (*Filtek Bulk Fill flow*) i konvencionalnih tekućih (*Filtek Supreme flow*) se približila, ali nije dosegla statistički značajnu vrijednost od 0,05 (BLV vs.CLV; t-test p=0,056).

Nije bilo statistički značajne razlike između krutih i tekućih kompozitnih materijala. Značajnije razlike u otpuštanju monomera između materijala nisu uočene nakon 7 i 28 dana mjerenja (Tablica 6., Slika 19.).

Tablica 6. Usporedba količine otpuštenih monomera kod konvencionalnih i debeloslojnih te krutih i tekućih kompozitnih materijala nakon 7 i nakon 28 dana

Manufacture randAnalyte	**BHV**		**BLV**		**CHV**		**CLV**		***t*-Test *p*Value**			
	Mean	**(SD)**	**Mean**	**(SD)**	**Mean**	**(SD)**	**Mean**	**(SD)**	**BHVvs. CHV**	**BLVvs. CLV**	**BHVvs. BLV**	**CHVvs. CLV**
Filtek												
DMABEE	3,5	(0,3)	4,6	(1,0)	3,8	(0,0)	3,1	(0,3)	0,295	0,067	0,156	**0,049**
BisGMA	0,0	(0,0)	6,9	(2,1)	6,5	(6,3)	4,0	(0,7)	NA	0,084	NA	0,567
TEGDMA	33,2	(28,3)	1,4	(2,4)	128,3	(34,3)	51,2	(6,0)	**0,021**	**<0,001**	0,192	**0,019**
HEMA	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	NA	NA	NA	NA
Tetric												
DMABEE	3,8	(0,0)	3,8	(3,2)	3,4	(0,5)	5,0	(0,5)	0,323	0,547	0,991	**0,022**
BisGMA	7,3	(0,5)	14,5	(11,5)	16,1	(1,8)	15,8	(1,6)	**0,001**	0,865	0,389	0,829
TEGDMA	93,3	(66,5)	46,6	(25,3)	4,5	(7,7)	202,8	(99,2)	0,149	0,057	0,319	0,075
HEMA	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	NA	NA	NA	NA

Other												
DMABEE	3,8	(0,0)	2,0	(0,2)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	NA	NA	**0,003**	NA
BisGMA	5,7	(1,1)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	NA	NA	NA	NA
TEGDMA	121.7	(63,1)	54,2	(15,3)	98,9	(35,9)	75,1	(12,2)	0,615	0,137	0,146	0,339
HEMA	0,0	(0,0)	0,0	(0,0)	34,2	(10,0)	7,7	(0,5)	NA	NA	NA	**0,045**

BHV – debeloslojni kruti, BLV – debeloslojni tekući, CHV – konvencionalni kruti, CLV – konvencionalni tekući

Slika 19. Prikaz količine otpuštenih monomera kroz tri vremenska razdoblja između svih 12 ispitivanih materijala

Jedina usporedba koja je bila statistički značajna je razlika u otpuštanju DMA BEE koja se otpustila kod konvencionalnih krutih i tekućih kompozitnih materijala.

Kod *TetricEvo Bulk fill* i konvencionalnih materijala i između krutih i tekućih kompozitnih materijala pronađena je statistički značajna razlika u svim usporedbama (sve p vrijednosti <0,01).

Kod ostalih kompozitnih materijala (*Gradia, Gradia Direct flo, X-tra fill* i *SDR*) statistički značajna razlika u otpuštanju bila je između debeloslojnih krutih i debeloslojnih tekućih (p=0,006), ostale usporedbe nisu bile moguće.

Nakon 28 dana, većina razlika u količini otpuštenih monomera između materijala se smanjuje i jedino otpuštanje DMA BEE koji se otpustio iz konvencionalnih krutih i tekućih kompozitnih materijala ostaje statistički značajno (t –test p=0,002; Tablica 6., Slika 20.).

Slika 20. Prikaz količine otpuštenih monomera iz ispitivanih materijala detektiranih putem LC/MS -MS podjeljenih prema skupinama materijala *Filtek* graf (A); *Tetric* graf (B); *Tetric* graf (C); ostali (*Gradia*) graf (D).BHV-debeloslojni kruti; BLV-debeloslojni tekući; CHV-konvencionalni kruti; CLV-konvencionalni tekući

BiS-GMA nije detektiran kod tekućih debeloslojnih *Filtek* materijala, stoga nije bilo moguće napraviti usporedbe. Kod ostalih uzoraka *Filtek* materijala također nije bilo statistički značajne razlike u izlučivanju BiS-GMA niti nakon 24 sata (Tablica 5.).

Nakon 28 dana, BiS-GMA nije detektirana ni kod tekućih debeloslojnih materijala.

Kod svih *Tetric* materijala, količine otpuštene BiS-GMA bile su statistički značajno različite (sve p vrijednosti<0,01), no kod ostalih materijala BiS-GMA nije detektirana nakon 24 sata.

Razlike u otpuštanju TEGDME bile su statistički značajne samo između krutih i tekućih *Filtek* materijala (p=0,037). S druge strane, razlike u otpuštanju TEGDME bile su samo kod usporedbe debeloslojnih i konvencionalnih *Tetric* materijala.

Nakon 24 sata otpuštanje TEGDME iz uzoraka kompozitnih materijala nije bilo statistički značajno, ali zato nakon 28 dana statistički značajne razlike bile su kod *Filtek* materijala (Tablica 6.). Kod *Tetric* materijala nije uočena statistički značajna razlika.

S obzirom da HEMA nije otpuštena i detektirana niti u jednom *Filtek* ili *Tetric* materijalu, usporedbe nisu bile moguće.

Količina otpuštene HEMA kod *Gradia* i *Gradia Direct flo* (kruti i tekući) bile su statistički značajne nakon 24 sata (p=0,018) i 28 dana (p=0,045).

5. RASPRAVA

U ovom radu analizirana je količina otpuštenih monomera iz uzoraka 6 konvencionalnih (krutih i tekućih) te 6 debeloslojnih (krutih i tekućih) kompozitnih materijala nakon polimerizacije, pohranjenih u 75 % otopinu etanola te se otpuštanje mjerilo 24 sata, 7 dana i 28 dana metodom tekućinske kromatografije s dvojnom spektrometrijom masa (LC-MS/MS).

Svrha mnogobrojnih dosadašnjih istraživanja bila je odrediti količinu sastavnih dijelova kompozitnih materijala koje se otpuštaju u usnu šupljinu nakon polimerizacije te su detektirane pojedine komponente istih (63,64).

Važan faktor kod otpuštanja monomera koje se nalaze u sastavu kompozitnih materijala je veličina samog monomera; manje molekule otpuštaju se brže od većih, stoga se monomeri male molekulske mase mogu otpustiti brže nego molekule velike molekulske mase (65).

Različite analitičke metode (HPLC te plinska kromatografija sa spektrometrijom masa) upotrebljavane za detekciju monomera opisali su Ruyter and Oysead (66).

U ovoj studiji, za detekciju otpuštenih monomera, koristili smo metodu tekućinske kromatografije s dvojnom spektrometrijom masa (LC-MS/MS). LC-MS/MS je konstruiran tako da može detektirati velik broj analita u jednom snimanju. Metoda tekućinske kromatografije sastoji se u napretku i poboljšanju kromatografskih kolona koje nužno prati i znatno poboljšanje rada i snage pumpi tekućinskih kromatografa uz znatno ubrzane detektore, a to sve doprinosi unapređenju same kromatografije kao analitičkog postupka jer jako doprinosi povećanju osjetljivosti analitičke metode – signali su viši i uži pa se mogu detektirati niže koncentracije analita. Osim toga, detektori masa su visoko selektivni što za posljedicu ima smanjenje šuma i povećanu osjetljivost (67).

Dvojna spektrometrija masa kao tehnika uz ionizaciju elektroraspršenjem (engl.*electrospray ionization*) može se primijeniti na velik broj analita pri čemu toplinska (ne) stabilnost i hlapivost uglavnom ne predstavljaju problem (68). Uz visoku osjetljivost mogu se analizirati i molekule visokih molekulskih masa (proteini, polimeri). Dvojni spektrometri masa mogu po potrebi dati velik broj strukturalnih informacija uz snimanje na više načina – snimanje iona prekursora, produkata fragmentacije, gubitka neutralnih dijelova molekule (engl.*Neutral Loss*) poput vode (69).

Za potrebe ovog rada korišten je način snimanja tandem MS (MS^2) i MRM (70).

Uz iznimku znanstvenog istraživanja Polydorou i sur. (71) koji su proučavali otpuštanje monomera iz 2 kompozitna materijala (nanohibrid i ormocer) nakon različitih vremena polimerizacije, nema puno istraživačkih radova s uporabom ove metode.

Poznato je da otpušteni monomeri mogu doprinijeti citotoksičnosti kompozitnih materijala.

Guertsen i Leyhausen (72) objavili su da oralna okolina često sadrži velike količine TEGDME, dapače, Američki Nacionalni institut za sigurnost i zdravlje klasificirao je TEGDMA kao iritans za različita tkiva koja također može izazvati proliferaciju bakterija važnih za nastanak karijesa- *Streptococcus sobrinius* i *Lactobacillus acidophilus* (73).

Spahl i sur. (74) pokazali su u svojoj studiji da se unutar kompozitnih materijala mogu naći monomeri i razni aditivi te nečistoće koje nastaju tijekom proizvodnog procesa.

U nekoliko *in vitro* studija dokazali su se citotoksični, genotoksični, mutageni učinci na pulpna i /ili gingivalna tkiva/oralnu mukozu kao reakcija otpuštenih monomera (75).

U ovom radu istraživano je otpuštanje monomera TEGDMA, BiS-GMA, DMA BEE i HEMA u tri vremenska intervala.

Prva i druga hipoteza koje su pretpostavile da nakon polimerizacije konvencionalinih i debeloslojnih kompozitnih materijala nema otpuštanja monomera i da nema razlike u otpuštanju monomera u 75 % otopinu etanola između konvencionalnih i debeloslojnih krutih i tekućih kompozitnih materijala su odbačene jer je dokazano da se monomeri otpuštaju nakon polimerizacije materijala i da, također, postoje razlike u otpuštanju između konvencionalnih i debeloslojnih kompozitnih materijala.

Rezultati ovog rada pokazuju da je TEGDMA nađena u svim materijalima ove studije, ali nije bilo statistički značajne razlike u detektiranoj količini u različitim materijalima tijekom tri različita vremenska intervala (Tablica 2). To je u korelaciji sa ostalim studijama koje su također detektirale TEGDMU kao glavni monomer koji se otpušta iz kompozitnih materijala (76).

Međutim, razlike kod otpuštanja TEGDME su bile značajne samo između krutih i tekućih *Filtek* materijala i debeloslojnih i konvencionalnih tekućih materijala i to samo nakon 28 dana, s naglaskom da su bile više izražene kod *Filtek* materijala (Tablica 6).

TEGDMA je monomer male molekularne težine pa se otpušta brže nego veće molekule kao npr BiS-GMA (77).

U ovoj studiji Bis-GMA detektirana je kod 9 od 12 materijala.

Kod *Gradie, Gradia Direct flo* i *SDR* nije zabilježen BiS-GMA niti u jednom od tri ispitivana vremenska intervala (Tablica 2).

SDR je tekući debeloslojni radiopaktni kompozit koji otpušta fluor, namijenjen za kavitete kod posteriornih zuba za klasu 1 i 2. On ima karakteristike tekućeg kompozita, no budući da pripada debeloslojnim kompozitima može se upotrebljavati u jednom sloju debljine 4 mm bez nastanka polimerizacijskog stresa. Prema navođenjima proizvođača, monomeri otpušteni iz SDR mogu iritirati kožu, oči i oralnu sluznicu (78).

HEMA je kao monomer sastavni dio kompozitnog materijala obzirom na svoja hidrofilna svojstva te je nađena u ovoj studiji unutar samo par materijala. HEMA može uzrokovati cititoksične i genotoksične efekte (79).

Kod *Gradie* i *Gradie Direct flo*, količina je bila statistički značajno različita – povećanje otpuštanja HEMA tijekom vremenskog perioda kod Gradie i smanjenje otpuštanja kod *Gradia Direct flo* (Tablica 2).

HEMA je degradacijski produkt UDMA, koji je sastavni dio organskog matriksa *Gradia* i *Gradia Direct flo* prema MSDSs.

BiS-GMA nije detektiran u tekućim materijalima, neke usporedbe nisu bile moguće te nije bilo statističkih značajnosti u izlučenoj količini BiS-GMA kod Filtek materijala unutar 24 sata i 28 dana od polimerizacije.

BiS-GMA nije detektirana kod tekućih debeloslojnih materijala.

Količine otpuštene kod *Gradia* i *Gradia Direct flo* materijala nisu bile statistički značajne 24 sata i 28 dana nakon polimerizacije.

U studiji Cebe i sur. (80) količina otpuštene BiS-GMA iz *Tetric Evo Ceram Bulk Fill* bila je veća od količina otpuštene TEGDMA i HEMA iz *X tra fill* kompozita, što nije u korelaciji s ovom studijom gdje je TEGDMA pronađena kod svih krutih i tekućih kompozitnih materijala u usporedbi s BiS-GMA, dok je HEMA pronađena samo kod *Gradia* kompozitnih materijala.

Usna šupljina predstavlja specifično okruženje u kojoj se nalazi slina, kompleksna tjelesna tekućina koja oplahuje zube, gingivu i oralne sluznice. Slina ima važnu ulogu u očuvanju zdravlja usne šupljine te sprečavanju bolesti što se ostvaruje kroz njene brojne funkcije. (81).

75 % otopina etanola ima sličan parametar topljivosti kao slina te omogućuje maksimalno omekšavanje smola unutar kratkom vremena (82). Ta otopina preporučena je od strane vodiča

Američke administracije za hranu i lijekove (FDA) 1976., 1988. kao klinički relevantna otopina, već je upotrebljavana u ostalim studijama stoga je to razlog upotrebe iste u ovoj studiji (83).

Vremenski period za mjerenje otpuštanja monomera u 75 % otopini etanola 24 sata nakon polimerizacije izabrano je jer se smatra, prema dosadašnjim istraživanjima, da se gotovo svi monomeri i supstance otpuštaju u tom periodu (84).

Međutim, otpuštanje monomera zasigurno nije linearno tijekom vremena te postoje studije koje pokazuju da otpuštanja može biti i nakon 30 ili čak do godinu dana nakon polimerizacije (85). Iz tog razloga, u ovom radu uzeli smo period mjerenja i nakon 7 dana i nakon 28 dana.

DMA BEE je ko-inicijator koji kod kompozitnih materijala služi za ubrzavanje degradacije inicijatora u radikale (86).

U ovoj studiji, statistički značajna razlika nađena je kod otpuštanja DMA BEE između *Filtek* krutih debeloslojnih i konvencionalnih kompozitnih materijala i *Filtek* tekućih debeloslojnih i konvencionalnih tekućih materijala.

U svim usporedbama za *Tetric* debeloslojne i konvencionalne krute i tekuće kompozite, bilo je statistički značajnih razlika za otpuštenu količinu DMA BEE te je također bilo statistički značajne razlike između *X tra fill* i *SDR*, ostale usporedbe nisu bile moguće.

Nakon 28 dana, otpuštanje DMA BEE kod konvencionalnih krutih i tekućih kompozita bilo je značajno (Tablica 2.)

Također je bilo statističke značajne razlike kod uzoraka *TCBf, FBFf, TEC, FSf i FBf* te se količina otpuštenog povećavala kod uzoraka *TECbf, FBFf, TEC* i smanjivala kod uzoraka *FSf* i *FBf* (Tablica 2.)

Otpuštanje HEMA pokazalo je maksimalno povećanje 28 dan kod *Gradia* materijala što je u korelaciji sa Altintas i Usumez (87) koji su istraživali otpuštanje rezidualnih monomera iz cementa koje je bilo minimalno u prvih 10 minuta nakon polimerizacije, a puno veće 21 dan.

Gradia Direct flo pokazala je maksimalno otpuštanje u prva 24 sata, sa smanjenjem otpuštanja nakon 28 dana. Taj podatak ima sličnost kao rezultati u studiji Duruk i sur. (88) koji su dobili rezultat da je otpuštanje HEMA iz cementa *Ionolux* (VOCO, Cuxahaven, Germany) bilo vrlo malo 1 sat nakon polimerizacije, 24 sata nakon se povećalo, a 21 dan je otpuštanje bilo

smanjeno. Uzrok tomu moglo bi biti interakcija HEMA molekulom s vodom, uzevši u obzir da je HEMA jako hidrofilna, a otopina se sastoji od 75 % etanola i 25 % vode.

TEGDMA je pokazivala razlike otpuštanja kod istraživanih materijala te je otpuštanje bilo veće nakon 24 sata (*X-tra fill, SDR, Filtek Supreme, TetricEvo Ceram i Gradia Direct flo*) u odnosu na 28 dan, dok su veće količine otpuštene TEGDME nađene 28 dan kod materijala *Filtek Bulk Fill,Tetric Evo Ceram Bulk Fill, Tetric Evo Flow Bulk Fill, Gradia i TetricEvo flow*.

Pretpostavlja se da su razlike u veličini čestica anorganskog punila te omjer monomera koji su specificirani od strane proizvođača uzrok utvrđene razlike u otpuštanju monomera između mikro hibridnih i nanohibridnih kompozitnih materijala.

De Angelis i sur. (89) koristili su HPLC da bi utvrdili količinu otpuštenih monomera 24 sata i 14 dana nakon polimerizacije kod *GrandioSO* (VOCO) nanohibridnih kompozita. Prema njihovim rezultatima, količina otpuštene TEGDMA mogle su se detektirati nakon 24 sata, dok su količine BIS GMA bile veće nakon 24 sata nego nakon 14 dana.

Dodatno, 24 sata od polimerizacije količine otpuštene BiS-GMA bile su veće nakon 7 i 28 dana za *Filtek Bulk fill, Filtek Supreme flow i Tetric Evo flow*, dok kod svih drugih količine otpuštene BIS GMA su bile veće nakon 28 dana, osim kod *SDR, Gradia i Gradia Direct flo* gdje BiS GMA nije detektirana u ni jednom od vremenskih razdoblja.

U većini studija, razrijeđeni etanol, destilirana voda i metanol upotrebljavaju se kao otapalo za testiranje materijala. U ostalim protokolima, otpuštanje je također istraživano u umjetnoj slini i ostalim medijima sličnima okruženju usne šupljine.

Veća učinkovitost otapanja karakteristična je za organska otapala vjerojatno zbog bolje sorpcije i prodiranja u materijal. Obzirom da su monomeri obično hidrofobni, razlike između otpuštanja u organskim otapalima i onima temeljenim na vodi mogu se naći u istraživanjima (90).

Kod *in vitro* istraživanja dentalnih materijala i njihovih svojstava usna šupljina je oponašana kako bi se osigurale primjenjive analitičke procedure. Prirodna ljudska slina ima vrlo kompleksan i raznolik sastav koji je uvjetovan mnogobrojnim individualnim faktorima (uzimanje hrane, bakterijska kolonizacija te ostalo) koji utječu na intraoralni pH. Zbog ovih faktora, jako je teško proizvesti sintetičku formulu koja se točno podudara sa stvarnom, pravom ljudskom slinom (91). Isto tako, prava slina je nestabilna u vanjskim uvjetima pa je za ovakvu primjenu neadekvatna. Vrlo je teško napraviti replikat prave sline, stoga to treba uzeti u obzir

kod ovog i svih drugih *in vitro* istraživanja jer uvjeti *in vitro* ne mogu u potpunosti oponašati *in vivo* situaciju.

Studije koje su proučavale otpuštanje monomera u umjetnoj slini dobile su rezultate o jednakom otpuštanju monomera kod debeloslojnih i konvencionalnih kompozita unatoč njihovoj veličini čestica. Hidrofobnost monomera i njihovo umrežavanje unutar kompozitnog matriksa definitivno imaju značajan utjecaj na njihovo otpuštanje (92).

Uspoređujući vremenska razdoblja u kojima se u ovoj studiji mjerilo otpuštanje monomera, vidljivo je da je sa odmakom vremena povećala količina otpuštenih monomera BiS-GMA I DMA BEE kod svih *Tetric* i *Filtek* kompozita, kao što je također dokazano u studiji Janani i sur. (93).

Nazar i sur. također su u svojoj studiji koristili tekućinsku kromatografiju te utvrdili da se s protokom vremena statistički znatno povećava otpuštanje BiS-GMA i UDMA kod *Filtek* i *Tetric* materijala (94).

Postoji nekoliko studija koje su istraživale otpuštanje monomera kroz duži vremenski period (1, 3, 12 mjeseci) koristeći tekućinsku kromatografiju sa spektrometrijom masa (95). Međutim, dugotrajni efekti rezidualnih monomera na biokompatibilnost još su nejasni.

Obzirom na konstantan protok sline u usnoj šupljini, nije za očekivati da će koncentracija otpuštenih monomera dosegnuti kumulativnu razinu određenu u ovoj studiji, dok će dugotrajna izloženost i sistemski štetni učinci morati biti uzeti u obzir kod evaluiranja potencijalne toksičnosti otpuštenih komponenti.

Monomer otpušten iz materijala *Gradia* je HEMA (2-hidroksietil metakrilat). HEMA je male molekulske mase težine te je topiva u svim otopinama (130 g/mol).

HEMA se obično nalazi u sastavu kompozitnih materijala jer njena hidrofobna svojstva sprečavaju separaciju od vode i hidrofobnih ko-monomera. Međutim, neka nepovoljna fizičko-mehanička svojstva su dokumentirana, primjerice niski stupanj konverzije i zadržavanje vode, što ometa učinkovitu polimerizaciju (96).

Dodatno, HEMA pokazuje neke citotoksične učinke koji utječu na stanice, a koji mogu biti pogoršani povećanjem topivosti u vodi (97).

TEGDMA je monomer nađen u svim testiranim materijalima. To je niskoviskozni monomer male molekulske mase (286,32 g/mol) koji je dodan u organski matriks kompozita da bi reducirao viskoznost te povećao stupanj konverzije (DC).

Nažalost, visok stupanj konverzije kod TEGDME istodobno dovodi do skupljanja i stresa materijala tijekom polimerizacije. Zbog toga, TEGDMA je obično zamijenjena, barem u dijelovima monomerom koji ima veću molekulsku masu, ali manju viskoznost (npr. BIS EMA).

Postoje podaci o citotoksičnosti TEGDME na humane i gingivalne stanice fibroblasta koje se mogu povezati i sa nekrozom pulpe (98).

Kao i u drugim studijama, i u ovoj je BiS-GMA pokazala najmanju količinu otpuštanja, a ima najveću molekulsku masu (512,599 g/mol) i najmanju topivost u svim vrstama otapala.

Zbog svog velikog lomnog indeksa, niske volatilnosti, jakih mehaničkih svojstava, malog volumetrijskog skupljanja nakon polimerizacije, difuznosti u tkiva te dobrom adhezijom na caklinu, BiS-GMA je bazični monomer organskih matriksa kompozitnih materijala (99).

Međutim, ekspanzija proizvodnje kompozita temeljenih na BiS-GMA raste (100), unatoč činjenici o viskoznosti koja zabrinjava zbog negativnog utjecaja iste na mehanička svojstva materijala te mogući citotoksični efekt u kombinaciji sa BPA (101).

Bezgin i sur. (102) mjerili su otpuštanje rezidualnih monomera putem HPLC 24 sata, 48 sati i 72 sata nakon polimerizacije te kako poliranje i finiširanje kompozitnih ispuna utječe na otpuštanje TEGDMA, BiS-GMA, UDMA i HEMA kod konvencionalnih i debeloslojnih kompozita.

Finalno poliranje kompozitnih ispuna (esencijalno je za micanje vanjskih utjecaja) ima značajan učinak kod reduciranja otpuštanja UDMA, tako da korištenje celuloidne matrice u našoj studiji nije preveniralo stvaranje inhibicijskog sloja kisika što je dovelo do otpuštanja monomera u usnu šupljinu.

U studiji Reichl i sur. (103) odredili su redosljed otpuštanja monomera prema citotoksičnom potencijalu:

HEMA<TEGDMA<UDMA<BiS-GMA. U svojoj studiji dokazali su da EC50 vrijednosti za HEMA i TEGDMA rastu od 5 mmol/L (6 h) do 0,6 mmol/L (48 h) i od 3 mmol/L (6 h) do 0,4 mmol/L (48 h) (104).

U toj studiji, humani gingivalni fibroblasti bili su izloženi Bis-GMA u koncentraciji od 0,087 mmol/L, UDMA u koncentraciji od 0,106 mmol/L i HEMA u koncentraciji od 11530 mmol/L.

Usporedbom kompozitnih materijala sa i bez BiS-GMA, oni koji su otpuštali TEGDMA i BiS-GMA pokazivali su veću citotoksičnost i genotoksičnost (105).

Brojne studije opisale su specifične efekte otpuštenih monomera koji su bili u direktom kontaktu sa stanicama zubne pulpe uključujući i pojavu upale i onemogućavanje odnosno suzbijanje dentinske mineralizacije (106).

U ovoj studiji, koncentracije otpuštene TEGDMA koje su nađene, bile su ispod opasnih koje su dokazane u prethodnim studijama (107).

U svrhu određivanja količine otpuštenih monomera, većina studija koristila je tehniku HPLC (108) ili GC-MS (plinska kromatografija sa spektrometrijom masa).

Analitička metoda LC-MS (tekućinska kromatografija sa spektrometrijom masa) i UPLC-MS/MS (engl. *Ultra Performance Liquid Chromatography*) koriste se rjeđe, pa su se rezultati iz ove studije uspoređivali s tim metodama.

Na početku ovog istraživanja korištena je GC-MS metoda za određivanje ovih spojeva jer se pokazalo da je odziv instrumenata dovoljno dobar za određivanje tih spojeva u ovoj vrsti uzoraka. Međutim, neke spojeve, posebice onih molekulskih masa većih od 900, nije bilo moguće detektirati ovom instrumentalnom metodom. Osim toga, kvantifikacija plinskim kromatografom uz spektrometriju masa kao detektorom, ograničena je na najviše dva reda veličine mjernih koncentracija, a kvantitativni rezultati u određivanju količine analita u uzorcima su, kako se i kasnije pokazalo, bili u znatno većem rasponu. Stoga je, kao glavna analitička metoda odabrana tekućinska kromatografija s dvojnom spektrometrijom masa, koja ima veći raspon koncentracija kvantifikacije i može detektirati gotovo sve praćene analite od interesa iz uzorka.

Susila i sur. (109) mjerili su otpuštanje monomera iz kompozita koristeći se tehnikom tekućinske kromatografije sa spektrometrijom masa (LC-MS/MS). Mjerili su otpuštanje BIS EMA, BiS-GMA, TEGDMA i UDMA kod tri različita materijala: polisiloksan-dimetakrilat (*Ceram XTM*), Silorane (*Filtek P90TM*) i dimetakrilat (*RestofillTM*).

Kompozitni materijali na bazi dimetakrilata otpustili su više monomera i pokazali citotoksičnost, što je u korelaciji sa rezultatima ove studije gdje su se također otpustili monomeri iz

konvencionalnih i debeloslojnih kompozita (krutih i tekućih) nakon polimerizacije 20 sekundi sa Led lampom Bluephase G2.

Rezultati ove studije pokazali su da postoje statistički značajne razlike u otpuštanju monomera, ovisno o tipu i sastavu testiranih materijala.

Ograničenje ove studije je relativno mali broj uzoraka svakog od testiranih materijala, no to je posljedica uključivanja velikog broja različitih materijala (n=12) u višestrukim vremenskim točkama, što je ujedno i prednost studije.

No, zbog velikog broja kombinacija, povećanje broja tehničkih replikata bilo je teško provedivo.

Također, dodatno ograničenje je, primjenjena korekcija za višestruke statističke testove povrh korekcija uključenih u same testove, npr. ANOVA. Značajne rezultate bi svakako trebalo potvrditi kroz naredne fokusirane studije na većem broju uzoraka, što je u planu za nastavak rada.

6. ZAKLJUČCI

Uz ograničavajuće faktore ove studije zaključeno je:

Monomeri TEGDMA, HEMA, DMA BEE, BiS-GMA otpušteni su nakon polimerizacije iz konvencionalnih i debeloslojnih (krutih i tekućih) kompozitnih materijala. Rezultati pokazuju da pojedini kompozitni materijali otpuštaju više monomera nego drugi.

Međutim, kod svih testiranih materijala detektirano je otpuštanje TEGDMA.

Rezultati ove studije također pokazuju da kompozitni materijali nisu stabilni nakon polimerizacije te da koncentracija otpuštenih monomera može doseći kritičnu toksičnu razinu nakon apliciranja u zub.

Također, celuloidne matrice ne sprečavaju nastanak oksigenirajućeg sloja te je finalno poliranje kompozitnog materijala nužno za uklanjanje istog, jer isti može biti izvor zaostatnih monomera koji se mogu otpustiti u usnu šupljinu.

Dobar odabir kompozitnog materijala, poštivanje uputa za rukovanje od strane proizvođača te korištenje završnih obrada i poliranja kompozitnog materijala mogu reducirati otpuštanje zaostatnih monomera koji mogu uzrokovati genotoksične i citotoksične efekte na mekim tkivima u usnoj šupljini i organizmu općenito.

7. LITERATURA

1. Peutzfeld, A. Resin composites in dentistry: the monomer systems, European Journal of Oral Sciences. 1997;105:97-116.
2. Knežević, A, Tarle Z. Kompozitni materijali, skripta, Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2005.
3. Jerolimov, V. I sur: Osnove stomatoloških materijala, skripta, Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2005.
4. Leprince JG, Palin WM, Hadis MA, Devaux J, Leloup G. Progress in dimethacrylate-based dental composite technology and curring efficiency. Dent Mater. 2013;29:139-56.
5. Knezevic A, Ristic M, Demoli N, Tarle Z, Music S, Mandic VN. Composite photopolymerization with diode laser. Oper Dent. 2007;32:279-84.
6. Hoshoda H, Yamada T, Inokoshi S. SEM and elemental analysis of resin composites. J Prosthetic Dent. 1990;64:669-76.
7. Kim RJ, Kim YL, Choi NS, Lee LB.Polymerization shrinkage, modulus and shrinkage stress related to tooth restoration interfacial debonding in bulk fill composites. J Dent. 2015;43:430-39.
8. Oyster H, Ruyter I. Water sorption and filler characteristics of composites used in posterior teeth. J Dent Res. 1986;65:1315-18.
9. Soderhorm K. Filler leachability during water storage of six composite materials.Scand J Dent Res. 1990;98:82-8.
10. Randolph LD, Palin WM, Leprince JG. Composition of Dental Resin-Based Composites for Direct Restorations. In:Miletic V, editor. Dental Composite Materials for Direct Restorations: Springer International; 2018.p.11-24.
11. Ortengren U, Wellendorf H, Karlsson S, Ruyter IE. Water sorption and solubility of dental composites and identification of monomers released in an aqueous environment.J Oral Rehabil 2001;28:1106-15.
12. Lee JH, Um CM, Lee IB. Rheological properties of resin composites according to variations in monomer and filler composition. Dent Mater. 2006;22:515-26.
13. Cramer NB, Stansbury JW, Bowman CN. Recent advances and developments in composite dental restorative materials. J Dent Res. 2011;90:402-16.
14. Ferracane JL.Curent trends in dental composites. Crit Rev Oral Biol Med. 1995;6:302-18.
15. Ferracane JL. Resin composites state of art. Dent Mater. 2011;27:29-38.
16. Šutalo J. Kompozitni materijali u stomatologiji.Zagreb.Grafički zavod Hrvatske, 1998.

17. Stansbury JW. Curing dental resins and composites by photopolymerization. J Esthet Dent. 2000;12:300-8.
18. Bayne SC, Heymann HO, Swift EJ Jr. Update on dental composites restrations. J Am Dent Assoc. 1994;125:687-701.
19. Ille N, Hickel R.Resin composite restorative materials. Aust Dent J. 2011;56:59-63.
20. Craig RG. Chemistry composition and properties of composite resins. Dent Clinic North Am. 1981;25:219-39.
21. Gupta SK, Saxena P, Pant VA, Pant AB. Release and toxicity of dental resin composite.Toxicol Int. 2012;19:225-34.
22. Miletic V. Dental Composite Materials for Direct Restorations. Springer International; 2018.
23. Zimmerli B, Strub M, Jeger F, Stadler O, Lussi A. Composite materials: composition, properties and clinical applications. A literature review. Schweiz Monatsschr Zahnmed; 2010;120:972-86.
24. Kim K H, Ong JL, Okuno O: The effects of filler loading and morphology on the mechanical properties of contemporary composites. J Prosthet Dent. 2002;87:642-49.
25. Leprince J, Palin WM, Mullier T, Devaux J, Vreven J, Leloup G. Investigating filler morphology and mechanical properties of new low- shrinkage resin composite types. J Oral Rehabil. 2010;37:364-76.
26. Manhart J, Kunzelmann KH, Chen HY, Hickel R. Mechanical properties and wear behavior of light cured packable composite resins. Dent Mater. 2000;16:33-40.
27. Garoushi S, Sailynoja E, Vallituu PK, Lassila L. Physical properties and depth cure of a new short fiber reinforced composite. Dent Mater. 2013;29:835-41.
28. Fu SY, Lauke B, Mader E, Yue CY, Hu X. Tensile properties of short-glass-fiber and short-carbon-fiber reinforced polypropylene composites. Compos A: Appl Sci Manuf. 2000;31:1117-25.
29. Lu H, Lee YK, Oguri M & Powers JM. Properties of dental resin composites with a spherical inorganic filler. Operative Dentistry. 2006;31:734-40.
30. Zantner C, Kielbassa AM, Martus P, Kunzelmann KH. Sliding wear of 19 commercially available composites and compomers. Dent Mater. 2004;20:277-85.
31. Knezevic A, Zeljeznic D, Kopjar N, Tarle Z. Influence of curing mode intensities on cell structure cytotoxicy/genotoxicy. Am J Dent. 2009;22:43-8.
32. Barszczewska-Rybarek IM. Structure- property relationship in dymethacrylate networks based on Bis GMA, UDMA and TEGDMA. Dent Mater. 2000;25:1082-89.

33. Fugolin APP, Bacchi A, Pfeifer CS. Curing reaction in Kinetics. In: Miletic V, editor. Dental composite Materials fo Direct Restorations: Springer International; 2018. p.27-42.
34. Aljabo A, Xia W, Liaqat S, et al. Conversion, shrinkage, water sorption, flexural strenght and modulus of re-mineralizing dental composites.Dent Mater. 2015;31:1279-89.
35. Sideridou I, Tserki V, Papanastasiou G. Effects of chemical structure on degree of conversion in light cured dimetacrylate based resins. Biomaterials. 2002;23:1819-29.
36. Knezevic A, Zeljezic D, Kopjar N, Tarle Z. Citotoxicy of composite materials polymerized with LED curing units. Oper Dent. 2008;33:22-30.
37. Schultz SD, Laquai T, Kummerer K, Bolek R, Mercsh-Sundermann V, Polydorou O. Elution of monomers from provisional composite materials. Int J Polymer Sci. 2015; 2015, 617407.
38. Pongprueska P, De Munck J, Duca RC, Poels K, Covaci A, Hoet P, Goddiers L, Van Meerbeek B, Van Landuyt KL. Monomer elution in relation of degree of conversion for different type of composite. J Dent. 2015;43:1448-55.
39. Marovic D, Taubock TT, Atin T, Panduric V, Tarle Z. Monomer conversion and shrinkage force kinetics of low viscosity bulk fill resin composites. Acta Odonto Scand.2014; early Online, 1-7.
40. Par M, Gamulin O, Marovic D, Klaric E, Tarle Z. Raman spectroscopic assessment of degree of conversion of bulk fill resin composites-changes at 24 hour post cure. Oper Dent. 2015;40:92-101.
41. Eick JD, Kotha SP, Chappelow CC, Kilway KV, Giese GJ, Glaros AG et al. Properties of silorane based dental resins and composites containing stress reducing monomers. Dent Mater. 2007;23:1011-17.
42. Tarle Z, Knezevic A, Demoli N, Meniga A, Šutalo J, Unterbrink G, Ristić M, Pichler G. Comparison of composite curing parameters: effects of light source and curing mode on conversion, temperature rise and polymerization shrinkage. Oper Dent. 2006;31-2:219-26.
43. Tarle Z, Meniga A, Knežević A, Šutalo J, Ristić M, Pichler G. Composite conversion and temperature rise using a conventional, plasma arc and an experimental blue LED curing unit. J Oral Rehabil. 2002;29:662-67.
44. Atkinson JC, Diamond F, Eichmiller F, Schweiz R, Jones G. Stability of bisphenol A, triethylene-glycol dimethycrylate and bisphenol A dimethacrylate in whole saliva. Dent Mater. 2002;18:128-35.

45. Manojlovic D, Radisic M, Lausevic M, Zivkovic S, Miletic V. Mathematical modeling of cross linking monomer elution from resin based dental composites. J Biomed Mater Res part B. 2013;101B:61-7.
46. Stefova M, Ivanova V, Muratovska I. Identification and quantification of Bis GMA and TEGDMA released from dental materials by HPLC. J Liquid Chromatography Related Technol. 2005;28:289-95.
47. Demirel MG, Gonder HY, Tuncdemir MT. Analysis of monomer release from different composites after bleaching by HPLC. Life. 2022;12:1713.
48. Martin N, Jedynakiewicz N. Measurement of water sorption in dental composites. Biomaterials. 1998;19:77-88.
49. Lutz F, Philips RW. A classification and evaluation of composite resin systems. J Prosthet Dent. 1983;4:480-8.
50. Munksgard EC. Toxicology versus allergy restorative materials. Adv Dent Res. 1992;6:17-21.
51. Salerno M, Derchi G, Thorat S et al. Surface morphology and mechanical properties of new generation flowable resin composites for dental restoration. Dent Mater. 2011;27:1221-28.
52. Ille N, Jelen E, Luedmann T. Low shrinkage composite for dental application. Dent Mater J. 2007;26:149-55.
53. Garcia D, Yaman P, Dennison J. Polymerization shrinkage and depth cure of bulk fill flowable composite resins. Oper Dent. 2014;39:441-48.
54. Hugo B.Esthetics with composite resins: Basic and Techniques. London: Quintessence Publishing; 2009.
55. Davidson CL. Composite materialen in Seitenzahnbereich. Z stomat. 1984;81:429-34.
56. Lee HL, Orlowski JA. Differences in physical properties of composite dental restoratives. J Oral Rehabil. 1977;4:227-36.
57. Craig RG, O Brien WJ, Power JM. Dental materials: properties and manipulation. The CV Mosby Co St Louis 1983.
58. Davidson CL. Composite-Materialien im Seitzahnbereich, Z Stomat.1984; 81:429.
59. Chesterman J, Jowett A, Gallacher A, Nixon P. Bulk fill resin based composite restorative materials: a review. Br Dent J. 2017;222:337-44.
60. Hans H. Maurer. Current role of liquid chromatography-mass spectrometry in clinical and forensic toxicology. Analitical and Bioanalytical Chemistry. 2007;388:1315-25.

61. Hans H. Maurer. Multi-analyte procedures for screening for and quantification of drugs in blood, plasma, serum by liquid chromatography-single stage or tandem mass spectrometry (LC-MS or LC/MS-MS) relevant to clinical and forensic toxicology. Clinical Biochemistry. 2005;38:310-18.
62. Bocxlaer Van J.F, Clauwaert W.E, Lambert D.L, Deforce D.L, Van Den Eeckhout E.G, De Leenheer A.P. Mass Spectrometry Reviews. 2000;19:165-214.
63. Cebe M.A, Cebe F, Cengiz MF, Cetin AR, Arpag OF, Ozturk B. Elution of monomer from different bulk fill dental composite resins. *Dent.Mater. 2015;39:141-49..*
64. Kim JG, Chung CM. Elution from light-cured dental composites: Comparison of trimethacrylate and dymethacrylate as base monomers. J. Biomater Dent Res. Part B: Appl.Biomater. 2005;72:328-33.
65. Ferracane JL. Resin composite-State of Art. Dent Mater. 2011;27:29-38.
66. Ruyter IE, Oysaed H. Anaysis and characterisation of dental polymers. CRC Crit Rev.Biocompat. 1998;4:247-49.
67. Wylie FM, Terrace RA, Anderson JS. Forensic Science International. 2005;150:191-98.
68. Bogusz MJ. Liquid chromatography-mass spectrometry as a routine method in forensic sciences:a proof of maturity. Journal of Chromatography. 2000;748:3-19.
69. Bogusz MJ. Hyphenated liquid chromatographic techniques in forensic toxicology. Journal of Chromatography. 1999;733:65-91.
70. Zhang YV, Wei B, Zhu Y, Zhang Y, Bluth MH. Liquid chromatography mass tandem spectrometry an emerging technology in the toxicology laboratory. Clin Lab Med. 2016;36:635-61.
71. Polydorou O, Konig A, Hellwig E, Kummerer K. Long term release of monomers from modern dental composite materials. Eur J Oral Sci. 2009;117:68-75.
72. Guertensen W, Leyhausen G. Chemical-Biological interactions of the resin monomer triethyleneglycol-dymethacrylate (TEGDMA). J Dent Res. 2001;80:2046-50.
73. Forsten L. Short and long term flouride release from glassionomers and other fluoride - containing filling materials In Vitro. Scand J Dent Res. 1990;98:179-85.
74. Spahl W, Budzikiewitcz H, Guertensen W. Determination of leachable components from four commercial dental composites by gas and liquid chromatography/mass spectrometry. J Dent. 1998;26:137-45.
75. Michelsen VB, Lygre H, Skalevik R, Tveit AB, Solheim E. Identification of organic eluates from four polymer-based dental filling materials. Eur J Oral Sci. 2003;111:263-271.

76. Alshali RZ, Salim NA, Sung R, Satterthwaite JD, Silkas N. Alalysis of long-term monomer elution from bulk fill and conventional resin-composites using high performance liquid chromatography. Dent Mater. 2015;31:1587-98.
77. Tanaka K, Kaira M, Shintani H, Wakasa K, Yamaki M. Residual monomers (TEGDMA and Bis-GMA) of a set visible-light-cured dental composite resin when immersed in water. J Oral Rehabilitation.1991;18:353-62.
78. Densply. SDR .Scientific Compendium.2011
79. Gallorini M, Cataldi A, Di Giacomo V. Hema-induced cytotoxicy:oxidative stress, genotoxicity and apoptosis. Int Endodont J. 2014;47:813-18.
80. Cebe MA, Cebe F,Cengiz MF, Cetin AR, Arpag OF, Ozturk B. Elution of monomer from different bulk fill dental composite resin. Dent Mater. 2015;31:141-49.
81. Schwengberg S, Bohlen H, Kleinssaser N, Kehe K, Seiss M, Walther U, Hickel R, Reichl F. In vitro embryotoxicity assessement with dental restorative materials. J Dent. 2005;33:49-45.
82. Chung K, Greener EH. Degree of conversion of seven visible light- cured posterior composites.J Oral Rehabilitation. 1998;15:555-60.
83. United States and Food and Drug Administration (US FDA). Reccomendations for chemistry data for indirect food aditives petitiones; US FDA:Silver Spring, MD, USA 1998.
84. Ferracane J. Elution of leachable components from composites. J Oral Rehabilitation. 1994;21:441-52.
85. Polydorou O, Konig A, Hellwig E, Kummer K. Long term release of monomers from modern dental composite materials. Eur J Oral Sci. 2009;17:68-75.
86. Kullman W. Atlas of Parodontology with glass ionomer cements and composites; Carl Hanser Verlang:Munich, Germany; Vienna, Austria, 1990.
87. Altintas SH, Usumez A. Evaluation of monomer leaching from a dual cured resin cement. J Biomed Mater Res. 2008;86:523-29.
88. Duruk G, Akuuc S, Ugur Y. Evaluation of residual monomer release after poymerization of different restorative materials used in pediatric dentistry. BMC Oral Health.2022;22:232
89. De Angelis F, Mandatori D, Schiavone V, Melito FP, Valentinuzzi S, Vadini M, Di Tomo P, Vanini L, Perusi L, Pipino C et al. Cytotoxic and genotoxic effects of composite resins on cultured human gingival fibroblasts. Materials. 2001;14:5225.

90. Van Landuyt KL, Nawrot T, Geebelen B, De Munck J, Snauwaert J, Yoshihara K, Scheers H, Godderis L, Hoet P, Van Meerbeek B et al. How much do resin based materials releas? A meta-analytical approach.Dent Mater. 2001;27:723-47.
91. Jakubik A, Przeklasa-Bierowiec A, Muszynka B. Artificial saliva and its use in biological experiments. J Physiol Pharmacol. 2017;68:807-13.
92. Alshali RZ, Salim NA, Sung R, Satterthwaite JD, Silkas N. Analysis of long term monomer elution from bulk fill and conventional resin composites using high performance liquid chromatography.Dent Mater. 2015;31:1587-98.
93. Janani K, Teja KV, Sandhya R, Alam MK, Al-Qaisi RK, Shrivastava D, Alnnusayri MO, Alkhalaf ZA, Sghaireen MG, Srivastava KC. Monomer elution from three resin composites of two different time interval using high performance liquid chromatography -an in vitro study. Polymers. 2021;13:4395.
94. Nazar AM, George L, Mathew J. Effect of layer thickness on the elution of monomers from two high viscosity bulk fill composites. A high performance liquid chromatography analysis.J Concerv Dent. 2021;23:497-504.
95. Jandt KD, Sigusch BW. Future prospective of resin based dental materials. Dent Mater. 2009;25:1001-06.
96. Ahmed M, Yoshihara K, Yao C, Okazaki Y, Van Landuyt K, Peumans M, Van Meerbeck B. Multiparameter evaluation of acryamide HEMA alternative monomers in 2 step adhesives. Dent Mater. 2020;37:30-47.
97. Ginzkey C, Zinnitisch S, Steussloff G, Koehler C, Hackenberg S, Hagen R, Kleinsasser NH, Froelich K. Assesment of HEMA and TEGDMA induced DNA damage by multiple genotoxicological endpoints in human lymphocytes. Dent Mater. 2015;31:865-67.
98. Ferracane JL. Using posterior composites apropriately. J Am Dent Assoc. 1992;123:53-58.
99. Philips RW. Skinners science of Dental Materials. 7 th ed. Philadelphia; PA:W.B Saunders Co; 1973.
100. Bechler R, Wellendorf H, Sakhi AK, Samuelsen JT, Thomsen C, Bolling AK, Kopperud HM. Presence of leaching of bisphenol A from dental materials.Acta Biomater Odonto Scand. 2018;4:56-62.
101. Maserejian NN, Tracktenberg FL, Wheaton OB, Celefat AM, Ranganathan G, Kim HJ, Hauser R. Changes in urinary bisphenol A concentrations associated with placement of dental composite restorations in children and adolecents. J Am Dent Association. 2016;147:620-30.

102. Bezgin T, Cimen C, Ozalp N. Evaluation of residual monomers eluted from pediatric dental restorative materials. BioMed Res Int. 2021; 6316171.
103. Reichl FX, Esters M, Simon S, Seiss M, Kehe K, Kleinsasser N, Folwaczny M, Glas J, Hickel R. Cell death efects of resin based dental materialcompounds and mercurials in human gingival fibroblasts. Arch Toxicol. 2006;80:370-77.
104. Murray P, Hafez A, Winsdor L, Smith A, Cox C. Comparison of pulp responses following restoration of exposed and non-exposed cavities. J Dent. 2002;30:213-22.
105. Czasch P, Ille N. In vitro comparison of mechanical properties and degree of cure of bulk fill composites. Clin Oral Investig. 2013;30:227-35.
106. Modena KC, Casas-Apayco LC, Atta MT, Costa CA, Hebling J, Sipert CR, Navarro MF, Santos CF. Citotoxicy and bio compatibility of direct and indirect pulp capping materials. J App Oral Sci. 2009;17:544-54.
107. Asmussen E. Factors effecting the quality of remaining double bonds in restorative resin polymers. Eur J Oral Sci. 1982;90:490-96.
108. Daiamantopolou EI, Plastiras OE, Mourouzis P, Samanidou V. Validation of simple HPLC- UV method for the determination of monomers released from dental resin compositesin artificial saliva. Methods Protoc. 2020;3:35.
109. Susila AV, Balasubramanian V. Correlation of elution and sensitivity of cell lines to dental composites. Dent Mater. 2016;32:63-72.

8. ŽIVOTOPIS

Matea Lapaš Barišić rođena je 29.4.1978. u Zagrebu gdje je završila osnovnu školu i 2. opću gimnaziju u kojoj je oslobođena mature.

1997. god upisuje Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu te ga uspješno završava 2003 god. Tijekom studija volontira u renomiranoj ordinaciji dentalne medicine te je suradnik u časopisu Sonda, list studenata Stomatološkog fakulteta.

2003. godine provodi mjesec dana na Columbia University, School for Dental and Oral Surgery, New York, USA.

Tijekom 2005. 6 mjeseci radi kao predstavnik firme Bredent te iste godine upisuje magisterij koji uspješno završava 2007 godine („Remineralizacijski potencijal i mikropropustljivost materijala za pečaćenje fisura“).

2007. godine otvara vlastitu stomatološku ordinaciju u kojoj radi i danas te u skrbi za oralno zdravlje brine o korisnicima Doma za starije i nemoćne Trešnjevka.

2008. godine sudjeluje u izradi rekvizite (stomatološka pomagala) za predstavu „Kauboji“ teatra Exit te za istoimeni film u režiji Tomislava Mršića

U razdoblju od 2012. do 2014. sudjeluje na kongresima FDI (Istanbul, Hong Kong, New Delhi) gdje ima poster prezentacije.

Od 2005. do 2015. skrbi za oralno zdravlje učenika „Centar za odgoj i obrazovanje Dubrava“.

2014. upisuje doktorski studij na Stomatološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu

2015. sudjeluje u promicanju oralnog zdravlja u OS JJ Strossmayer.

2015. god započinje specijalizaciju iz parodontologije na Stomatološkom fakultetu sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof. dr. Andreja Aurera koju uspješno završava 2018 god te tijekom tog razdoblja aktivno sudjeluje u istraživačkom radu te kongresima Europerio.

Tijekom 2017. god sudjeluje na externship programu iz parodontologije na Herman Ostrow School of Dentistry of USC, Los Angeles pod mentorstvom prof Home Zadeha.

2018. sudjeluje u promicanjima oralnog zdravlja kod pacijenata oboljelih od karcinoma te aktivno sudjeluje u radu udruge Sve za nju kao predavač.

Autorica je udžbenika Dentalna oprema i materijali, udžbenik za srednju školu.

Od 2022. vanjski je suradnik na Zavodu za parodontologiju Fakulteta za dentalnu medicinu i zdravstvo u Osijeku.

Udana je i majka 1 sina.

Popis objavljenih radova:

1. Lapas Barisic M, Sarajlija H, Klaric E, Knezevic A, Sabol I, Panduric V. Detection of leachable components from conventional and bulk fill resin composites (high and low viscosity) using liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS) method. Polymers. 2023; 3:627-44. (In press)
2. Par M, Lapas Barisic M, Gamulin O, Panduric V, Spanovic N, Tarle Z. Long term degree of conversion of two bulk fill composites. Acta Stomatologica Croatica.2016; 4:292-300.
3. Lapas Barisic M, Barac Furinger V. Remineralization potential and microleakage of fissure sealants. In vitro study. International journal of dental and medical research. 2015; 5:3-6.

Sažeci sa skupova:

1. Lapas Barisic M, Par M, Gamulin O, Panduric V, Tarle Z. Long term development of degree of conversion of bulk fill composites during 7 days. Sažetak 1.Međunarodnog kongresa Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu 20 i 21.3.2015 U:Acta Stom Croatica. 2015; 2:49.
2. Lapas Barisic M. Remineralization potentian of in vitro fissure sealant study. FDI Istanbul 2013.
3. Lapas Barisic M, Par M, Gamulin O, Panduric V, Tarle Z. Long term post cure conversion of bulk fill composites. Journal of Dental Research. 2015
4. Caratan S, Jelavic S, Lapas Barisic M, Zabarovic M, Filicic I, Aurer A. Papillary bleeding index at hospital discharge predicts schizophrenia treatment outcomes. A proscpective
5. cohort study. Europerio Amsterdam, 2018.