



Sveučilište u Zagrebu

Stomatološki fakultet

Antonela Šošić

**OTPUŠTANJE FLUORIDNIH I
KALCIJEVIH IONA TE MIKROTVRDOĆA
STAKLENOIONOMERNIH MATERIJALA
MODIFICIRANIH BIOAKTIVNIM
STAKLOM**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2026.



Sveučilište u Zagrebu

Stomatološki fakultet

Antonela Šošić

**OTPUŠTANJE FLUORIDNIH I
KALCIJEVIH IONA TE MIKROTVRDOĆA
STAKLENOIONOMERNIH MATERIJALA
MODIFICIRANIH BIOAKTIVNIM
STAKLOM**

DOKTORSKI RAD

Mentor: izv. prof. dr. sc. Ana Ivanišević

Zagreb, 2026.



University of Zagreb

School of Dental Medicine

Antonela Šošić

**FLUORIDE AND CALCIUM IONS
RELEASE AND MICROHARDNESS OF
GLASSIONOMER MATERIALS
MODIFIED BY BIOACTIVE GLASS**

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisor: Asiss. Prof. Ana Ivanišević, PhD

Zagreb, 2026.

Rad je ostvaren na Zavodu za restaurativnu dentalnu medicinu i endodonciju na Stomatološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu u sklopu projekta „Modifikacija strukture i vezne površine biomaterijala i tvrdih zubnih tkiva“. IP-2022-10-6065 Voditeljica: prof. dr. sc. Ivana Miletić

Lektor hrvatskog jezika: Vanja Nekich, profesorica hrvatskog jezika i književnosti

Lektor engleskog jezika: Michael Nekich, stalni sudski tumač za engleski jezik

Sastav Povjerenstva za ocjenu doktorskog rada:

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

Sastav Povjerenstva za obranu doktorskog rada:

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

Datum obrane rada: _____

Rad sadrži: 117 stranica

37 slika

9 tablica

1 CD

Rad je vlastito autorsko djelo, koje je u potpunosti samostalno napisano uz naznaku izvora drugih autora i dokumenata korištenih u radu. Osim ako nije drukčije navedeno, sve ilustracije (tablice, slike i dr.) 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 njihovog podrijetla.

Zahvala

Hvala mojoj dragoj mentorici izv. prof. dr. sc. Ani Ivanišević na prekrasnoj ljudskoj i profesionalnoj suradnji i podršci te što je pratila svaki korak moga poslijediplomskoga puta.

Hvala svim profesorima i kolegama s kojima sam imala čast surađivati, na čelu s prof. dr. sc. Ivanom Miletić koja je uvelike pomogla da se ovo istraživanje uspješno provede.

Hvala cijeloj mojoj obitelji na podršci tijekom dosadašnjega obrazovanja, a posebno mojoj majci. Hvala bratu na pomoći u tehničkom oblikovanju. Hvala prijateljima za ohrabrenje i pomoć.

Hvala mom suprugu i djeci za sve.

Ovu disertaciju posvećujem svom pokojnom didu Anti.

Sažetak

OTPUŠTANJE FLUORIDNIH I KALCIJEVIH IONA TE MIKROTVRDOĆA STAKLENOIONOMERNIH MATERIJALA MODIFICIRANIH BIOAKTIVNIM STAKLOM

Cilj ovog istraživanja bio je procijeniti utjecaj eksperimentalnih bioaktivnih stakala (BAG i BAG-F) na otpuštanje fluoridnih i kalcijevih iona, sposobnost ponovnog primitka fluorida, mikrotvrdoću te površinska i kemijska svojstva visokoviskoznog staklenoionomernog cementa Fuji IX GP® (Fuji) i staklenohibridnog cementa Equia Forte HT Fil® (Equia). Materijali su modificirani dodatkom BAG-a i BAG-F-a (5%). Bioaktivna stakla karakterizirana su ICP-MS i FTIR spektroskopijom. Otpuštanje fluoridnih iona praćeno je 91 dan, zatim nakon ponovnog punjenja još 3 tjedna (n = 12). Otpuštanje kalcijevih iona analizirano je tijekom 21 dana u uzorcima s BAG-F-om u deioniziranoj vodi i mliječnoj kiselini (n = 10), a koncentracije su određivane ionski selektivnim elektrodama. Mikrotvrdoća (VHN) mjerena je nakon 24 sata i 7 dana (n = 10), dok su morfologija i sastav analizirani SEM-EDS metodom. Statistička analiza provedena je ANOVA-om, uparenim t-testom i LSD testom ($\alpha = 0,05$). Modificirani materijali pokazali su značajno veće otpuštanje fluorida; najviše kod BAG-F skupina, zatim BAG, a najmanje kod nemodificiranih skupina ($p < 0,001$). Equia materijali otpuštali su više fluorida od Fuji ($p < 0,05$), uz smanjeno, ali stabilnije otpuštanje nakon ponovnog punjenja. Otpuštanje kalcija ovisilo je o materijalu, mediju i vremenu ($p < 0,001$), s najvišim vrijednostima u skupini Fuji+BAG-F u mliječnoj kiselini, dok su Equia skupine imale niže vrijednosti. Porast mikrotvrdoće zabilježen je tijekom vremena u svim skupinama, Najveći VHN izmjeren je kod Fuji IX i Fuji+BAG. Dodatak BAG-F značajno je smanjio vrijednosti mikrotvrdoće ($p < 0,05$). FTIR analiza potvrdila je amorfnu silikatnu strukturu i prisutnost fluorida u BAG-F-u, dok SEM-EDS analiza nije pokazala prisutnost kristalnih precipitata na površini materijala. Dodatak BAG-a očuvao je ili blago poboljšao mehanička svojstva, dok je BAG-F povećao otpuštanje iona uz smanjenje mehaničke stabilnosti, uz ograničenu bioaktivnost in vitro.

Ključne riječi

bioaktivno staklo; staklenoionomerni cement; staklenohibridni cement; otpuštanje fluorida; otpuštanje kalcija; mikrotvrdoća; bioaktivnost

Summary

FLUORIDE AND CALCIUM IONS RELEASE AND MICROHARDNESS OF GLASSIONOMER MATERIALS MODIFIED BY BIOACTIVE GLASS

Aim: To evaluate the effect of experimental fluoride- and zinc-containing bioactive glasses (BAG and BAG-F) on ion release behavior, mechanical properties, surface characteristics and chemical composition of high-viscosity glass ionomer cement Fuji IX GP® (Fuji) and glass-hybrid cement Equia Forte HT Fil® (Equia).

Materials and Methods: Fuji IX and Equia Forte were modified with 5 wt% of BAG and BAG-F, resulting in six experimental groups. Bioactive glasses were characterized using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). Fluoride (F⁻) release was monitored over 91 days, followed by fluoride re-release for 21 days after recharging, across six groups (n = 12). Calcium (Ca) release was evaluated on Fuji and Equia modified by BAG-F over 21 days in distilled water and lactic acid (LA) across eight groups (n = 10). Fluoride and calcium concentrations were measured using ion-selective electrodes. Vickers microhardness (VHN) was measured after 24 h and 7 days of storage in distilled water. Surface morphology and elemental composition were analyzed using scanning electron microscopy with energy-dispersive spectroscopy (SEM-EDS) after storage in phosphate-buffered solution. Statistical analysis was performed using ANOVA, paired t-tests, and LSD post hoc tests ($\alpha = 0.05$).

Results: Fluoride release was significantly higher in all modified materials compared to the original cements, with the highest ion release occurring from materials modified with BAG-F, followed by BAG, and the lowest release from commercial materials at all time points, both before and after recharging ($p < 0.001$). Enhanced fluoride release was more pronounced in Equia-based materials than in Fuji-based materials ($p < 0.05$). Although fluoride re-release after recharging was lower than the initial release, it exhibited a slower decline over time. Calcium release was significantly influenced by material type, storage medium, and time ($p < 0.001$), with the highest values observed for Fuji BAG-F stored in lactic acid, followed by Fuji BAG-F, Fuji in lactic acid, and Fuji, while Equia-based groups showed lower overall calcium release. Fuji IX and Fuji IX+BAG exhibited the highest microhardness values at both time points, whereas BAG-F significantly reduced

VHN compared to unmodified materials ($p < 0.05$). All materials showed a significant increase in microhardness over time ($p < 0.05$). FTIR confirmed the amorphous silicate structure and fluoride incorporation in BAG-F, while SEM-EDS revealed no crystalline precipitates on any material surface after phosphate exposure.

Conclusions: Incorporation of BAG preserved or slightly improved microhardness, whereas BAG-F significantly enhanced fluoride and calcium ion release at the expense of mechanical performance. The absence of crystalline precipitates indicates the absence of bioactivity *in vitro*. Optimization of bioactive glass composition is essential to achieve a balance between mechanical stability and sustained bioactivity in glass ionomer-based restorative materials.

Keywords:

bioactive glass; glass ionomer cement; glass-hybrid cement; fluoride release; calcium release; microhardness; bioactivity

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Suvremeni pristup u restaurativnoj stomatologiji: uloga bioaktivnih materijala	2
1.2. Staklenoionomerni cementi	4
1.2.1. Klasifikacija staklenoionomernih cemenata	6
1.2.2. Suvremeni materijali bazirani na staklenoionomernim cementima: formulacija i primjena	6
1.3. Fluorid i kalcij u kontekstu remineralizacije	7
1.3.1. Mehanizmi djelovanja fluorida u prevenciji karijesa	7
1.3.2. Uloga kalcijevih iona u stvaranju apatita i remineralizaciji	9
1.3.3. Značaj otpuštanja fluoridnih i kalcijevih iona iz materijala	9
1.4. Bioaktivno staklo	10
1.4.1. Kemijski sastav	11
1.4.2. Bioaktivnost	11
1.4.3. Antimikrobna svojstva	12
1.4.4. Klinička primjena bioaktivnog stakla	13
1.5. Modifikacija staklenoionomernog cementa bioaktivnim staklom	14
1.5.1. Utjecaj na ionsko otpuštanje	15
1.5.2. Promjene u fizikalno-mehaničkim svojstvima	15
1.6. Mikrotvrdoća	16
1.7. Procjena svojstava staklenoionomernih materijala modificiranih bioaktivnim staklom	17
1.7.1. Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom	17
1.7.2. Masena spektrometrija s induktivno spregnutom plazmom	18
1.7.3. Ionski selektivna elektroda	18
1.7.4. Mikrotvrdoća po Vickersu	19

1.7.5. Pretražni elektronski mikroskop sa spektroskopom za energijski razlučujuću rendgensku spektrometriju	19
2. CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA	21
3. MATERIJALI I METODE	23
3.1. Komercijalni i eksperimentalni materijali korišteni u istraživanju	24
3.1.1. Kvalitativna analiza eksperimentalnog bioaktivnog stakla FTIR spektroskopijom	25
3.1.2. Kvantitativni sastav prahova komercijalnih materijala i eksperimentalnog bioaktivnog stakla ICP- MS	25
3.2. Otpuštanje fluoridnih iona	26
3.2.1. Skupine	26
3.2.2. Veličina uzorka	27
3.2.3. Priprema uzoraka za mjerenje oslobađanja fluoridnih iona	29
3.2.4. Mjerenja otpuštanja fluorida	30
3.2.5. Statistička analiza	34
3.3. Otpuštanje kalcijevih iona	34
3.3.1. Skupine	34
3.3.2. Veličina uzorka	34
3.3.3. Priprema uzoraka za mjerenje oslobađanja kalcijevih iona	35
3.3.4. Mjerenja otpuštanja kalcijevih iona	36
3.3.5. Statistička analiza	39
3.4. Mjerenje mikrotvrdoće uzoraka	40
3.4.1. Skupine	40
3.4.2. Veličina uzorka	40
3.4.3. Priprema uzorka	41
3.4.4. Ispitivanje mikrotvrdoće	42

3.4.5.	Statistička analiza	45
3.5.	SEM-EDS analiza	45
4.	REZULTATI.....	47
4.1.	Sastav Fuji IX, Equia Forte HT i eksperimentalnih bioaktivnih stakala BAG i BAG-F	48
4.1.1.	FTIR spektroskopija	48
4.1.2.	ICP-MS analiza	49
4.2.	Otpuštanje fluoridnih iona	51
4.2.1.	Otpuštanje fluoridnih iona iz komercijalnih i modificiranih uzoraka do iscrpljivanja	51
4.2.2.	Otpuštanje fluoridnih iona iz komercijalnih i modificiranih uzoraka nakon ponovnog punjenja fluoridima	56
4.3.	Otpuštanje kalcijevih iona.....	61
4.3.1.	Otpuštanje kalcijevih iona iz komercijalnih i modificiranih materijala u neutralnom i kiselom mediju.....	61
4.4.	Mikrotvrdoća	67
4.4.1.	Ispitivanje statistički značajnih razlika između skupina.....	67
4.4.2.	Ispitivanje statistički značajnih razlika unutar grupa kroz vrijeme	70
4.5.	SEM-EDS analiza	72
5.	RASPRAVA.....	78
5.1.	Otpuštanje fluoridnih i kalcijevih iona	79
5.2.	Mikrotvrdoća	86
5.3.	Vizualizacija površine i bioaktivnost	90
6.	ZAKLJUČAK	92
7.	LITERATURA	94
8.	ŽIVOTOPIS I POPIS OBJAVLJENIH RADOVA	115

Popis skraćenica

ANOVA	analiza varijance (eng. <i>analysis of variance</i>)
ART	atraumatski restorativni tretman (eng. <i>atraumatic restorative treatment</i>)
ATR	smanjena totalna refleksija (eng. <i>attenuated total reflectance</i>)
BAG	bioaktivno staklo s manjim udjelom spojeva fluora i cinka
BAG-F	bioaktivno staklo s većim udjelom spojeva fluora i cinka
BF	tjelesna tekućina (eng. <i>body fluid</i>)
CPP-ACP	kazein fosfopeptid-amorfni kalcijev fosfat (eng. <i>casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate</i>)
DNA	deoksiribonukleinska kiselina (eng. <i>deoxyribonucleic acid</i>)
FDA	Agencija za hranu i lijekove (eng. <i>Food and Drug Administration</i>)
FTIR	Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (eng. <i>Fourier transform infrared spectroscopy</i>)
HEMA	hidroksietil metakrilat (eng. <i>hydroxyethyl methacrylate</i>)
HF	fluorovodična kiselina (eng. <i>hydrofluoric acid</i>)
ICP-MS	masena spektrometrija s induktivno spregnutom plazmom (eng. <i>inductively coupled plasma mass spectrometry</i>)
IR	infracrveno (eng. <i>infrared</i>)
ISO	Međunarodna organizacija za standardizaciju (eng. <i>International organization for standardization</i>)
LA	mliječna kiselina (eng. <i>lactic acid</i>)
LSD	najmanja značajna razlika (eng. <i>the least significant difference</i>)

MID	minimalno intervencijska stomatologija (eng. <i>minimal intervention dentistry</i>)
PBS	fosfatni pufer (eng. <i>phosphate-buffered saline</i>)
SBF	simulirana tjelesna tekućina (eng. <i>simulated body fluid</i>)
SEM-EDS	pretražni elektronski mikroskop sa spektroskopom za energijski razlučujuću rendgensku spektrometriju (eng. <i>Scanning Electron Microscopy with Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy</i>)
SIC	staklenoionomerni cement (eng. <i>glass ionomer cement</i>)
TISAB	pufer za podešavanje ukupne ionske topljivosti (eng. <i>total ionic solubility adjustment buffer</i>)
VHN	Vickersova vrijednost mikrotvrdoće (eng. <i>Vickers microhardness number</i>)

1. UVOD

1.1. Suvremeni pristup u restaurativnoj stomatologiji: uloga bioaktivnih materijala

Svjetska zdravstvena organizacija procjenjuje da gotovo 3,5 milijardi ljudi diljem svijeta, odnosno približno polovica ukupne populacije, boluje od nekog oblika oralnih bolesti, osobito karijesa (1). Tradicionalno se u restaurativnoj dentalnoj medicini koriste materijali poput dentalnog amalgama, kompozita i staklenoionomernih cemenata (SIC) (2). Iako dentalni amalgam pokazuje izvrsnu mehaničku izdržljivost, njegova uporaba je sve više ograničena zbog boje, izostanka adhezije na tvrda zubna tkiva i sadržaja žive, koja ima dokazano štetne učinke na okoliš i zdravlje ljudi (3). Iako živa u vezanom amalgamu nije u elementarnoj formi i dvojbena je štetnost amalgamskih ispuna na zdravlje ljudi (3), Europski parlament donio je zakon kojim se postupno ukida uporaba dentalnog amalgama do 1. siječnja 2025., uz mogućnost odgode do 30. lipnja 2026. za države koje još nisu prilagodile sustave nadoknade troškova kako bi se izbjegle socioekonomske posljedice za osobe s niskim primanjima (4).

U kontekstu razvoja restaurativnih stomatoloških materijala, Konvencija iz Minamate iz 2013. godine predstavlja svojevrsnu prekretnicu jer je bila osnova za zakonska rješenja koja su uslijedila, a koja reguliraju postupno ukidanje dentalnog amalgama, materijala koji u nevezanoj formi sadrži oko 50% elementarne žive i koji je desetljećima bio standard u dentalnoj restaurativnoj terapiji. Konvencija iz Minamate predložila je devet mjera za smanjenje uporabe amalgama, čime se naglasak stavio na promicanje preventive i minimalno invazivne dentalne medicine, temeljene na adhezivnim materijalima (5). Taj pomak paradigmi otvorio je prostor za intenzivan razvoj i primjenu estetski prihvatljivijih materijala kao što su staklenoionomerni cementi i kompoziti, koji se vežu za zubna tkiva kemijski ili mikromehanički. Bez obzira na mehaničku inferiornost staklenoionomernih cemenata u usporedbi s kompozitnim smolama, njihova biokompatibilnost i ekološka prihvatljivost prednosti su koje pokreću istraživačke napore u smjeru poboljšanja mehaničkih svojstava (6). Također, karijesprotektivno djelovanje staklenih ionomera uklapa se u globalnu politiku Svjetske zdravstvene organizacije koja naglašava potrebu za jačanjem prevencije karijesa i integracijom oralnog zdravlja u šire zdravstvene politike, a time potiče inovacije stomatoloških materijala (7).

Minimalno intervencijska stomatologija (*eng. Minimal Intervention Dentistry, MID*) predstavlja suvremeni pristup u saniranju karijesa te u fokus stavlja očuvanje zdravog zubnog tkiva, ranu detekciju karijesa, remineralizaciju oštećene cakline i dentina te individualizirane preventivne mjere i terapijske protokole. Minimalno invazivna terapija ima za cilj pravodobno prepoznati i kontinuirano pratiti aktivnosti karijesnih lezija, remineralizirati zahvaćena tvrda zubna tkiva, minimalno ukloniti oštećeno tkivo kada je restaurativni zahvat nužan, primijeniti biokompatibilne materijale te osigurati funkciju prirodne denticije tijekom cijelog života (8).

Važnost MID-a u kontekstu razvoja restaurativnih materijala ogleda se u potrebi za materijalima koji nisu samo mehanički učinkoviti, već i biološki aktivni, adhezivni, netoksični i ekološki prihvatljivi, stoga se staklenoionomerni cementi i bioaktivni kompoziti koji otpuštaju fluorid, potiču remineralizaciju i inhibiraju djelovanje patoloških enzima savršeno uklapaju u filozofiju MID-a. Razvoj takvih materijala omogućuje pomak od invazivnih zahvata i uporabe toksičnih spojeva prema preventivno orijentiranoj, minimalno invazivnoj i održivoj stomatologiji. S obzirom na ograničenja kompozitnih materijala, poput polimerizacijskog skupljanja, mikropropuštanja, osjetljivosti na tehniku rada te citotoksičnosti i genotoksičnosti monomera na kojima se temelje, u porastu je interes za staklenoionomerne cemente (9). Kemijska adhezija na zubna tkiva, biokompatibilnost i fluoridno otpuštanje neke su od prednosti SIC-a. Njihov značaj potvrđuju i preporuke FDI-a i uvrštavanje SIC-a na Model listu esencijalnih lijekova Svjetske zdravstvene organizacije iz 2021. godine (10). Sukladno tomu, razvoj i primjena SIC-a kao održive i ekološki prihvatljive alternative dentalnom amalgamu postaje sve važniji cilj suvremene preventivne i restaurativne stomatologije.

U suvremenoj dentalnoj medicini postoji veliki interes za primjenu bioaktivnih materijala u restaurativnim i rekonstrukcijskim postupcima. Važno je istaknuti da se percepcija pojma bioaktivnost razlikuje ovisno o primjeni pa se tako u endodontskoj i oralnoj kirurgiji obično odnosi na sposobnost materijala da na svojoj površini formira kristale hidroksiapatita u dodiru s tkivnom tekućinom ili drugom tekućinom koja sadrži fosfatne ione (11). U implantologiji se bioaktivnost odnosi na potencijal nekih materijala da ostvare izravnu kemijsku vezu između implantata i kosti. Međutim, iz biološke

perspektive, bioaktivnim spojevima smatraju se svi agensi, pa tako i restaurativni materijali koji potencijalno pozitivno djeluju na žive stanice i tkiva (12). Zato se paste koje se u preventivnoj stomatologiji koriste za remineralizaciju vanjske površine cakline nazivaju bioaktivnim pastama za zube. Restaurativni materijali koji otpuštaju fluoridne ione, poput SIC-a, mogu se smatrati bioaktivnim spojevima, ako uzmemo u obzir adheziju na zubna tkiva i oslobađanje fluorida kao osnovu za bioaktivnost. Dakle, iako otpuštanje iona, karijesprotektivno djelovanje i kemijska adhezija ne impliciraju precipitaciju hidroksiapatitu sličnih kristala na površini materijala ni kemijsku svezu s kosti, a što podrazumijeva klasična definicija bioaktivnosti (13), s biološkog aspekta SIC- i su bioaktivni materijali.

1.2. Staklenoionomerni cementi

Staklenoionomerni cementi samoadhezivni su restaurativni materijali koje su prvi opisali Wilson i Kent 1972. godine (14). Sadrže dvije komponente – prah i tekućinu. Prah je po kemijskom sastavu fluoro-aluminosilikatno staklo, a tekućina poliakrilna kiselina, koja se može kopolimerizirati s karboksilnom, maleinskom, tartarnom ili itakonskom kiselinom kako bi se regulirala viskoznost i stabilnost (15). SIC se veže za strukturu zuba putem ionskih veza i uključuje reakciju kelacije između karboksilnih skupina poliakrilne kiseline i kalcija u kristalima hidroksilapatita zuba (16).

Stvrdnjavanje SIC-a odvija se unutar 2 – 3 minute od miješanja kiselinsko-baznom reakcijom koja uključuje sljedeće faze:

1. Faza oslobađanja iona: nakon miješanja praha i tekućine, hidratizirani protoni (H_3O^+) iz kiseline otapaju površinu staklenih čestica. Oslobađaju se SiO_4^{4-} , Ca^{2+} , Na^+ i F^- ioni.
2. Hidrogel faza: Ca^{2+} oslobođen u vodenom mediju reagira s poliakrilnom kiselinom i stvara trodimenzionalnu umreženu strukturu kalcijevih poliakrilnih lanaca koji uzrokuju gelaciju i početno vezivanje cementa. U ovom trenutku materijal ima nisku čvrstoću i gubi površinski sjaj.
3. Faza stvaranja soli: reakcija stvrdnjavanja nastavlja se tijekom sljedećih 24 sata. Tijekom tog vremena SiO_4^{4-} formira silikagel. Sporo pokretni Al^{3+} ioni ulaze u

vodeni medij i umrežavaju lance poliakrilne kiseline istiskujući Ca^{2+} ione. To povećava konačnu čvrstoću stvrdnutog cementa.

4. Sazrijevanje: lanci poliakrilata umreženi aluminijem i kalcijem s vremenom se hidratiziraju apsorpcijom vode iz vodenog medija. Ovaj proces poznat je kao maturacija. U konačnici se dobiva kompleks izvornih čestica stakla ovijenih silicijevim hidrogelom ugrađenih u matriks kalcijsko-aluminijskih poliakrilnih lanaca (16–19).

SIC je cement na bazi vode jer voda čini 11% – 24% stvrdnutog cementa, a djeluje kao reakcijski medij na početku stvrdnjavanja, dok kasnije posreduje u sporijoj hidrataciji umreženih lanaca. Voda može brzo isparavati tijekom početnih faza zbog izloženosti okolnom zraku. S druge strane, kontaminacija vodom tijekom ove faze može uzrokovati otapanje matriksa i otpuštanje kalcijevih iona. Dakle, unos ili gubitak vode rezultira slabim, neprozirnim i topljivijim cementom (20).

Svojstva staklenoionomernog cementa slična dentinu su modul elastičnosti, koeficijent toplinskog širenja i toplinske vodljivosti. Kemijski prijanja uz strukturu zuba, biokompatibilan je i ima svojstvo oslobađanja fluorida (17,21) zbog čega je izvrsna zamjena za dentin. Međutim, smanjena čvrstoća, smanjena otpornost na abraziju i neadekvatna estetika čine ga inferiornim u usporedbi s kompozitnim materijalima (17,21). SIC i njegove modifikacije imaju širok raspon primjena. Zbog vrlo niskog skupljanja i toplinske kompatibilnosti sa strukturom zuba, ovi materijali koriste se kao podloge ispod kompozita, što je poznato pod nazivom sendvič tehnika (22). Sposobnost vezanja za dentin čak i bez uklanjanja zaostatnog sloja, biološka kompatibilnost i oslobađanje fluorida čine ih materijalima izbora za restauraciju karijesnih zuba kod pacijenata s visokim rizikom za razvoj karijesa (23).

Starije generacije staklenoionomernih cemenata imale su relativno loša mehanička svojstva i slabu otpornost na trošenje uz visoku početnu topljivost, dok novije generacije visokoviskoznih staklenoionomernih cemenata imaju poboljšana mehanička svojstva i pružaju veću razinu oslobađanja fluorida u usporedbi s tradicionalnim staklenoionomernim cementima (24).

1.2.1. Klasifikacija staklenoionomernih cementata

Tradicionalno, prema Wilsonu i McLeanu (25), SIC se dijeli na cement za podloge, za cementiranje i za ispune. Albers razlikuje osam skupina prema načinu primjene: za cementiranje, za ispune, metalom ojačane, cement, kavitetne premaze, za podloge, za pečenje te smolom modificirane cemente (16, 18). Hickel dijeli SIC na: konvencionalni (stvrđjava se acidobaznom reakcijom), viskoviskozni (povećan omjer praha u odnosu na tekućinu), metalom ojačani te smolom modificirani koji sadrže hidrofilnu organsku matricu - HEMA (hidroksietil metakrilat, eng. *hydroxyethyl methacrylate*) (16,18).

1.2.2. Suvremeni materijali bazirani na staklenoionomernim cementima: formulacija i primjena

Veća gustoća materijala i bolja mehanička svojstva postignuta su povećanjem zasićenosti tekućine česticama praha. Viskoviskozni SIC-i pokazuju bolju otpornost na abraziju u odnosu na konvencionalne formulacije, a dodatna poboljšanja postignuta su smanjenjem veličine čestica i njihovom homogenom distribucijom unutar matriksa (26). Najčešće korišteni predstavnici ove skupine materijala su Ketac Molar (3M ESPE, Seefeld, Njemačka) i Fuji IX GP (GC, Tokyo, Japan) (25).

U posljednjih dvadesetak godina razvijeni su restaurativni koncepti koji se temelje na viskoviskoznim SIC-ima u kombinaciji sa zaštitnim premazima. Prije dvadesetak godina tvrtka GC (Tokyo, Japan) predstavila je koncept koji uključuje Fuji IX GP Extra i nanopunjeni zaštitni premaz (eng. *coat*), a koji je kasnije evoluirao u sustav nazvan Equia Fil. Indiciran je za jednoplošne i manje dvoplošne ispune u molarima i premolarima, s obzirom na to da se odlikuje poboljšanim mehaničkim svojstvima, osobito visokom kompresivnom čvrstoćom (27,28). Bolja mehanička i estetska svojstva Equia Fila pripisuju se primjeni mikrolaminirane tehnike. Naime, u površinski sloj materijala djelomično se ugrađuje premaz Equia Coat koji sadrži nanočestice, čime se poboljšavaju otpornost, trajnost i estetika restauracije (29). Sljedeći korak u razvoju SIC-a predstavlja uvođenje staklo-hibridne tehnologije. Godine 2014. GC je lansirao Equia Forte Fil, a 2019. i njegovu unaprijeđenu verziju Equia Forte HT Fil. Ovi materijali temelje se na modificiranom fluoro-aluminosilikatnom prahu kojem su dodane reaktivne staklene čestice različitih veličina. Visoka reaktivnost finih čestica ubrzava procese umrežavanja

matriksa, što rezultira poboljšanim fizikalno-mehaničkim svojstvima (26,30). Zahvaljujući tim svojstvima, staklo-hibridni SIC-evi indicirani su za trajne restauracije stražnjih zuba, uključujući ispune I., manje ispune II. i ispune V. razreda, kao i za privremene restauracije (31). Zbog jednostavne primjene, čvrstoće i prihvatljivih estetskih svojstava u kliničkoj praksi prepoznati su kao dugotrajno rješenje.

Stakleno hibridni staklenoionomerni cement EQUIA Forte razvijen je kako bi se poboljšala mehanička svojstva staklenoionomernih cemenata. Prema proizvođaču, čestice stakla sadržane u prahu ravnomjerno su raspoređene, ultrafine i vrlo reaktivne, a molekularna masa poliakrilne kiseline povećana, što jača mehanička svojstva materijala (32). Premaz smolom (eng. *coat*) služi za zaštitu staklenoionomernog cementa od kontaminacije vodom tijekom početne faze stvrdnjavanja, a istovremeno brtvi površinske pukotine i poroznosti. Posljedično poboljšava otpornost na trošenje i čvrstoću, uz veću transparentiju i bolje rubno brtvljenje (33).

1.3. Fluorid i kalcij u kontekstu remineralizacije

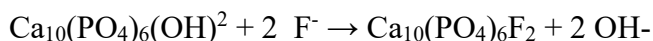
Stakleni ionomeri mogu otpuštati aktivne ione poput fluorida, fosfata, silikata, aluminijevih, natrijevih i kalcijevih iona u okolni vodeni medij te postići adheziju na tvrda zubna tkiva na temelju ionske izmjene. Ti ioni sudjeluju u remineralizaciji demineraliziranog zubnog tkiva, a njihovo otpuštanje se povećava u kiselim uvjetima (34). Ionska izmjena odvija se u slini, koja je bogata fosfatima i kalcijevim ionima. SIC preuzima ione iz sline i povećava tvrdoću same površine cementa, koja je otpornija na kisele uvjete (35).

1.3.1. Mehanizmi djelovanja fluorida u prevenciji karijesa

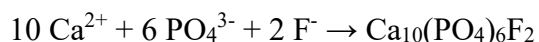
Fluoridni ioni imaju zaštitni učinak kroz antibakterijsko i kariostatsko djelovanje, što čini staklenoionomer restauracijom izbora kod pacijenata s visokim rizikom od karijesa jer inhibira kariogene bakterije koje uzrokuju demineralizaciju (36). Fluorid sprječava razvoj karijesa prvenstveno topikalnim djelovanjem kroz tri glavna mehanizma: inhibiciju demineralizacije, poticanje remineralizacije i antibakterijsko djelovanje na plak. Primjena fluorida iz proizvoda za oralnu higijenu, poput pasti za zube, vodica za ispiranje i lakova, pokazuje učinkovitost zahvaljujući tim mehanizmima, dok sustavna primjena fluorida

(npr. tablete, kapi, pastile) ima ograničen učinak na zaštitu od karijesa (37, 38). Prema Linčir i sur. (38) kemijska interakcija topikalnih fluorida i hidroksiapatita iz cakline odvija se na sljedeće načine:

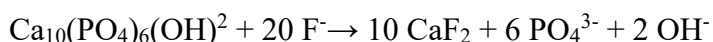
1. Izo-ionska izmjena F^- s hidroksilnim ionima:



2. Stvaranje fluorapatita iz prezasićene otopine:



3. Stvaranje kalcijeva fluorida:



U prve dvije reakcije dobiva se čvrsto vezani fluorid za apatitnu strukturu, najčešće kao rezultat dugoročnog izlaganja niskim razinama fluorida. Primjenom fluorida u koncentraciji 100 – 10,000 ppm, koju najčešće nalazimo u proizvodima za oralnu higijenu i remineralizaciju, na površini cakline se formiraju globuli kalcijeva fluorida. Globularni precipitati su homogeniji primjenom preparata s višim koncentracijama fluorida (39).

Iako fluorid ugrađen u strukturu cakline tijekom razvoja zuba ne smanjuje značajno njezinu topljivost u kiselini (40), nakon erupcije zuba topikalno djelovanje fluorida u biofilmu može učinkovito inhibirati demineralizaciju. Tijekom smanjenja pH, fluorid iz plaka difundira u površinski sloj cakline, veže se na kristalnu strukturu i štiti je od otapanja. Fluorapatit ($Ca_{10}(PO_4)_6F_2$), koji nastaje zamjenom hidroksilne skupine u hidroksiapatitu fluoridnim ionom, pokazuje znatno veću otpornost na kiseline u usporedbi s karbonatnim apatitom i hidroksiapatitom (37).

Fluorid potiče remineralizaciju zubnih tkiva tako što ubrzava rast fluorapatitnih kristala na djelomično demineraliziranim kristalima u karijesnim lezijama. Adsorbira na površinu kristala, privlači kalcijeve ione i omogućuje formiranje fluorapatitu slične površine, koja je manje topljiva u prisutnosti kiselina iz plaka (37). U površinskoj caklini samo 10% hidroksilnih skupina može se zamijeniti fluoridom (41).

Antibakterijski učinak fluorida temelji se na njegovoj sposobnosti da u kiseloj sredini proдре u kariogene bakterije u obliku fluorovodične kiseline (HF), gdje disocira u H^+ i F^- ione. Posljedično, bakterijska citoplazma ima niži pH, inhibira se enzim enolaza te

smanjuje bakterijska aktivnost (42). Taj je učinak kumulativan i dodatno doprinosi smanjenju rizika od karijesa (37).

1.3.2. Uloga kalcijevih iona u stvaranju apatita i remineralizaciji

Povećano otpuštanje iona, prvenstveno Ca^{2+} , F^- i PO_4^{3-} , ali i Sr^{2+} iz restaurativnih materijala može inhibirati nastanak sekundarnog ili rekurentnog karijesa, zaustaviti početni karijes na susjednim površinama zuba te remineralizirati djelomično demineralizirani karijesni dentin ispod ispuna (43–45). Npr. kalcij-silikatni cementi pokazali su dobre rezultate u remineralizaciji dentina in vitro, što se pripisuje njihovoj sposobnosti oslobađanja Ca^{2+} i OH^- iona te poticanja taloženja apatita u kontaktu s tkivnim tekućinama (46). Kalcij se često zamjenjuje stroncijem u sastavu SIC-a zbog njihove slične atomske veličine i polarnosti, pri čemu se, umjesto kalcijevih, koriste spojevi stroncijeva oksida i fluorida. Stroncij se tijekom kisele degradacije materijala otpušta iz SIC-a, može se ugrađivati u kristalnu rešetku zubnog tkiva te sudjelovati u formiranju stroncijeva hidroksiapatita, a dodatno povećava radiopacitet bez negativnog utjecaja na estetiku cementa (48, 49).

1.3.3. Značaj otpuštanja fluoridnih i kalcijevih iona iz materijala

Otpuštanje fluoridnih iona iz staklenoionomernih materijala (SIC) temeljito je istraživano u prethodnim studijama (49–51). Kinetika otpuštanja fluorida analizirana je u neutralnim i kiselim uvjetima u konvencionalnim kemijski stvrdnjavajućim te u smolom modificiranim SIC-ima (50, 53). Otpuštanje fluorida odvija se u dvije faze: inicijalna faza obilježena je tzv. „burst“ učinkom koji se pripisuje otapanju nematuriranog materijala, tzv. „dissolution stage“ prema Nicholsonu (52), dok je kasnija faza karakterizirana usporenim otpuštanjem temeljenim na difuziji iona iz već maturiranog materijala. Upravo to dugotrajno, postupno otpuštanje smatra se ključnim za karijesprotektivni učinak ovih materijala te za njihov potencijal remineralizacije, iako taj potencijal još nije definitivno potvrđen (54, 55). U kiselim uvjetima utvrđeno je veće otpuštanje fluorida (55), a kinetika otpuštanja se, kao i u neutralnim uvjetima, odvija u dva koraka: početna visoka razina otpuštenih iona slična je kinetici u neutralnim uvjetima, ali je količina otpuštenih iona relativno veća; a u drugoj fazi razina otpuštenih iona linearno je ovisna o vremenu, što

znači da se otpuštanje iona ne temelji samo na difuziji već i na otapanju materijala u kiselim uvjetima (52).

U dosadašnjim je istraživanjima pokazano da kemijsko stvrđavajući i smolom modificirani staklenoionomerni cementi otpuštaju i ostale ione, a ne samo fluoridne ione. U neutralnim uvjetima pokazalo se da SIC-i otpuštaju natrijeve i aluminijske ione te silikatne i fosfate skupine, dok u neutralnim uvjetima ne otpuštaju kalcijeve ione (56, 57). Otpuštanje kalcijevih i stroncijevih iona pokazatelj je remineralizacijskog potencijala materijala, ali i otapanja materijala. Tako u kiselim uvjetima, SIC materijali otpuštaju kalcijeve ione, a otpuštanje natrijevih i aluminijskih iona te silikata i fosfata izraženije je u kiselim uvjetima (mliječna kiselina, pH = 2,7) nego u neutralnim uvjetima (52).

1.4. Bioaktivno staklo

U području istraživanja biomaterijala stavljen je fokus na tkivno inženjerstvo i regeneraciju mekih i tvrdih tkiva bioaktivnim sastojcima aktiviranjem imunoloških stanica ili različitih proteina u tijelu (57). Jedan od aktualnih biomaterijala poznat je kao bioaktivno staklo (eng. *bioactive glass*) (58). Njegov kemijski sastav nastoji oponašati mineralni sastav ljudske kosti i dentina. Bioaktivna svojstva, regenerativnost i antimikrobna priroda čine ga važnim materijalom u medicini i stomatologiji. Bioaktivna stakla primjenjuju se u različitim granama stomatologije kao što su parodontologija, ortodoncija, endodoncija, oralna i maksilofacijalna kirurgija, estetska i restaurativna stomatologija (slika 1). Također, neki proizvodi za njegu zubi i usne šupljine u svom sastavu imaju bioaktivno staklo (31, 60, 61).

Mnogo je varijacija u sastavu ovih stakala, a među najpoznatijima koje je odobrila američka Agencija za hranu i lijekove (eng. *Food and Drug Administration, FDA*) za terapijsku primjenu su Bioglass 45S5 i S53P4 (61). Bioaktivna stakla slična su koštanom hidroksiapatitu u pogledu sadržaja kalcija i fosfata te omogućuju vezivanje i integraciju s koštanim tkivima stvaranjem sloja silikatnog gela koji stimulira proliferaciju i diferencijaciju stanica osteoblasta te inicira sintezu i taloženje organskog koštanog matriksa (62). Prva klinička primjena bioaktivnog stakla bila je rekonstrukcija koštanih struktura srednjeg uha materijalom Bioglass 45S5 u liječenju konduktivnog gubitka sluha (63).

1.4.1. Kemijski sastav

Postoje tri vrste bioaktivnih stakala: staklo na bazi silikata (SiO_2), fosfata (P_2O_5) i borata (B_2O_3) (64). Glavna formulacija se komercijalno zove Bioglass 45S5, a sadrži 45% SiO_2 , 24,5% Na_2O , 24,5% CaO i 6% P_2O_5 (58). Osim toga, bioaktivna stakla mogu sadržavati biokompatibilne i bioaktivne minerale kao što su fluorapatit, volastonit, diopsid i trikalcijev fosfat (65,66). Mnoga istraživanja usmjerena su na promjenu sastava Bioglass 45S5 dodavanjem ili uklanjanjem iona kako bi materijali bili prikladniji za različite kliničke primjene (67).

Dodavanje fluorida bioaktivnim staklima poboljšava njihova protukarijesna svojstva inhibiranjem demineralizacije, poticanjem remineralizacije te stvaranjem fluorapatita. (68–70). Ortofosfat potiče nastanak hidroksiapatita u tjelesnim tekućinama, što povećava biokompatibilnost i omogućuje primjenu u terapiji preosjetljivosti dentina (71–74). Povećan udio P_2O_5 i kationa u fluoridnim staklima potiče nastanak fluorapatita umjesto fluorita, što je povoljnije za primjenu u stomatologiji i ortopediji, osobito u kiselim uvjetima (75). Stroncij, sličan kalciju, povoljno djeluje na koštane stanice te potiče vezanje za kost, stimulira osteoblaste i inhibira osteoklaste, pri čemu pokazuje anabolička i antikatabolička svojstva (76–78). U pastama za zube na bazi silicija pokazao se učinkovit u liječenju preosjetljivosti dentina (79). Cink poboljšava vezivanje stakla s kosti, sudjeluje u regulaciji rasta i diferencijacije stanica, važan je za replikaciju DNA i sintezu proteina, dok njegov nedostatak usporava rast i remeti kalcifikaciju kostiju (81, 82). Također potiče stvaranje kosti i inhibira njezinu resorpciju, a u pastama za zube djeluje protuupalno i antimikrobno (65, 83).

1.4.2. Bioaktivnost

Jednom kada bioaktivno staklo dođe u kontakt s tjelesnim tekućinama (engl. *body fluid*, BF) ili simuliranom tjelesnom tekućinom (engl. *simulated body fluid*, SBF), započinje proces otpuštanja iona i razgradnje staklene mreže putem ionske izmjene između H^+ iona iz otopine i Na^+ te Ca^{2+} iona iz stakla. Ova ionska izmjena dovodi do hidrolize silicijevih veza i stvaranja silanolnih skupina (Si-O-H). Posljedično se povećava koncentracija OH^- iona, što rezultira razvojem lokalno alkalne sredine. Porastom pH vrijednosti dolazi do

daljnje razgradnje mreže silicijevog dioksida, pri čemu nastaje ortosilicijska kiselina, Si(OH)_4 , koja se na površini stakla taloži u obliku negativno nabijenog silikatnog gela koji djeluje kao matriks za nukleaciju i taloženje hidroksiapatita (83). Ispod silikatnog sloja gela nalazi se alkalno osiromašeni površinski sloj na vrhu staklene mase. Na površini sloja gela formira se sloj amorfnog kalcijevog fosfata, koji s vremenom prolazi fazu kristalizacije. Taloženje i daljnja mineralizacija potaknuti su prisutnošću karbonatnih iona iz prezasićene otopine, pri čemu su koncentracije Ca^{2+} i Si^{4+} iona u otopini ključne za tijek procesa.

Novoformirani hidroksiapatit omogućuje adsorpciju čimbenika rasta na svoju površinu te potiče pričvršćivanje, proliferaciju i diferencijaciju osteoprogenitorskih stanica, posredovanu djelovanjem citokina i komponenti izvanstaničnog matriksa, uz regulaciju ekspresije više gena (83). Iako točan mehanizam vezivanja BAG-a za tkivo još nije potvrđen, vjeruje se da kolagen i glikoproteini ugrađuju okolno koštano tkivo u sloj hidroksiapatita. Kako hidroksiapatit raste prema unutra, BAG se počinje resorbirati te nastaje koštano tkivo (84). Staklene čestice obično imaju veličinu 90 – 170 μm , što utječe na njihovu brzinu resorpcije. Čestice veličine manje od 150 μm lako se razgrađuju jer se ortosilicijska kiselina oslobađa tijekom stvaranja sloja gela. Osteoklasti, nakon što su ugrađeni u rastuću kost, razgrađuju veće čestice, što rezultira produljenim razdobljem resorpcije i jačom kosti (85).

1.4.3. Antimikrobna svojstva

Bioaktivna stakla, posebno BAG-S53P4, posjeduju antimikrobna svojstva širokog spektra na koja do danas nije potvrđena rezistencija (86). BAG-S53P4 dokazano smanjuje masu biofilma u *in vitro* uvjetima (88, 89). Jednom ugrađena u tijelo, bioaktivna stakla lokalno povećavaju pH i osmolarnost, što stvara okruženje nepovoljno za rast i adheziju bakterija (89,90). Dokazano su učinkovita protiv oralnih bakterija, kao što su *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mutans* i *Actinomyces viscosus*. Studija *in vitro* pokazala je smanjenje sposobnosti preživljavanja bakterija nakon jednosatnog izlaganja staklu. Ovaj antibakterijski učinak pojačava se nakon tri sata (91).

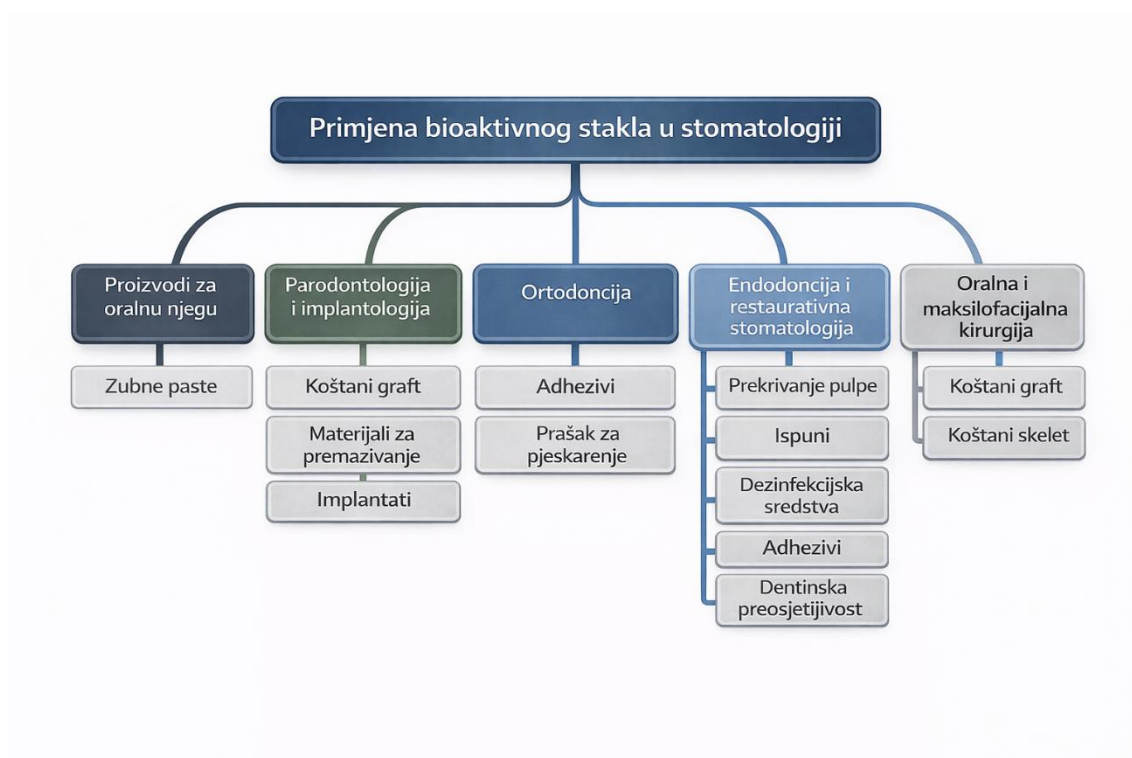
Kako se alkalnost smatra primarnim antimikrobnim mehanizmom, Bioglass® 45S5 se smatra učinkovitijim. Međutim, S53P4 pokazuje uravnoteženost između antimikrobnih svojstava, lužnatosti s pH od 7,9 i osteogenosti. Veličina čestica također utječe na antimikrobna svojstva; male veličine čestica povećavaju površinu i antimikrobni učinak (24). Ova svojstva čine ga mogućom zamjenom za kost u liječenju koštanih infekcija kao što su osteomijelitis i periimplantitis (93, 94). Bioaktivno staklo se sporo resorbira te pokazuje antimikrobna svojstva protiv patogena povezanih sa sinusitisom, što ga čini izvrsnim za podizanje dna sinusa te za zatvaranje oroantralne komunikacije. Dentalni implantati obloženi bioaktivnim staklom pokazali su obećavajuće rezultate sa smanjenim gubitkom koštane mase kod eksperimentalno inducirano periimplantitisa u pasa. Nedavna in vitro studija pokazala je smanjeno stvaranje biofilma sojeva parodontnih patogena, uključujući *S. mutans* (94).

1.4.4. Klinička primjena bioaktivnog stakla

U dosadašnjim istraživanjima učinka bioaktivnog stakla na caklinu i dentin, dokazan je pozitivan učinak na remineralizaciju cakline, a modifikacijom fluoridnim ionima povećan je remineralizacijski potencijal i stvaranje fluorapatita (75). Također je uočeno da bioaktivno staklo čvrsto prijanja uz dentin te da ioni iz čestica stakla prodiru u tkivo dentina, dok se površina stakla u kontaktu s dentinom mijenja, što dovodi do stvaranja apatita na međupovršini (95). In vitro studija za ispitivanje mineralizacije dentina bioaktivnim staklom pokazala je nukleaciju minerala i taloženje u tkivu (96). Međutim, tek treba potvrditi je li ta neto remineralizacija također funkcionalna remineralizacija koja vraća mehanička svojstva tkivu, budući da nije bilo moguće vratiti mehanička svojstva u svim analiziranim studijama (97–99). Mehanički oporavak modula elastičnosti i tvrdoće dentina objašnjava se vezom između novonastalih minerala i organskog matriksa (100).

NovaMin® (NovaMin Technology, GlaxoSmithKline, Florida, UK), staklo s vrlo finim česticama od približno 18 µm, razvijeno je kao sredstvo za remineralizaciju i desenzibilizaciju (17, 102). Korištenje bioaktivnog stakla kao desenzibilizirajućeg elementa u dentalnoj profilaksi (OSsray Ltd., UK) proučavano je kroz kliničku procjenu učinkovitosti praha natrijevog bikarbonata koji sadrži bioaktivno staklo. Veća statistička i klinička učinkovitost uklanjanja naslaga primijećena je s praškom koji sadrži bioaktivno

staklo, uz veću udobnost za pacijente smanjenjem osjetljivosti koja se stvara tijekom postupka. To se događa jer čestice bioaktivnog stakla zatvaraju dentinske tubuluse. Važan aspekt ovog desenzibilizirajućeg učinka je taj što je dugotrajan, zbog činjenice da ne uključuje samo mehaničku okluziju tubula, već i taloženje hidroksiapatita kao rezultat reakcija staklenih čestica (17). Zamjena abrazivnih materijala poput glinice bioaktivnim staklom u dentalnoj profilaksi ima prednost jer omogućuje remineralizaciju, manje je abrazivno i nema negativnih respiratornih učinaka (102).



Slika 1. Shematski prikaz upotrebe bioaktivnog stakla u dentalnoj medicini.

1.5. Modifikacija staklenoionomernog cementa bioaktivnim staklom

Većina trenutnih istraživanja usmjerena je na promjenu strukture komercijalnog bioaktivnog stakla dodavanjem ili uklanjanjem iona kako bi materijal bio kompatibilniji za različite kliničke primjene.

1.5.1. Utjecaj na ionsko otpuštanje

Thongsri i sur. (103) analizirali su otpuštanje fluorida iz SIC-a modificiranog 1% bioaktivnim staklom koje sadrži stroncij te je dokazano da to staklo ima sposobnost zadržavanja slobodnih fluoridnih iona unutar svoje porozne strukture, što bi moglo poboljšati njegovu sposobnost oslobađanja i upijanja fluorida. Sleibi i sur. (104) evaluirali su otpuštanje iona iz varnisha koji sadrže fluoride s CPP-ACP i bioaktivnim staklom. Raszewski i sur. (105) ispitivali su otpuštanje fluorida iz akrilnih materijala modificiranih 5% i 10% bioaktivnim staklima. Otpuštanje kalcija proučavano je u SIC modificiranim hidroksiapatitom i kalcijevim silikatom (106).

1.5.2. Promjene u fizikalno-mehaničkim svojstvima

Dodavanje bioaktivnog stakla SIC-u u određenoj mjeri može utjecati na mehanička svojstva materijala, pri čemu su konvencionalni SIC i njegove modifikacije bioaktivnim staklom imali veću površinsku mikrotvrdoću od smolom modificiranih SIC i njihovih modifikacija (107). Dodavanjem bioaktivnog stakla konvencionalnom stakloionomeru vrijeme stvrdnjavanja se povećava, a tlačna čvrstoća smanjuje (108). Utvrđeno je da su mehanička svojstva do određene mjere promijenjena te ih se predlaže koristiti za zaštitu pulpe ili kao endodontsko brtvilo. Prethodno je pokazano 10% povećanje u savojnoj čvrstoći u zdravom dentinu i 20% povećanje u demineraliziranom dentinu kada se smolom modificiranom stakloionomeru doda bioaktivno staklo (109). Godine 2008. bioaktivno staklo je dodano komercijalno dostupnom stakloionomeru (Fuji 1, GC, Japan). Mikrometrijski stakleni prah korišten je u udjelima od 10 do 30%. Ponašanje materijala, s obzirom na vrijeme stvrdnjavanja, vlačnu čvrstoću i bioaktivnost, analizirano je *in vitro*. Vrijeme stvrdnjavanja je produljeno kako se udio stakla povećavao; međutim, to nije utjecalo na vlačnu čvrstoću (110).

Dodavanje bioaktivnog stakla u stakloionomerne cemente može utjecati na mehanička svojstva i oslobađanje iona koji potiču remineralizaciju. Pokazalo se da dodatak 5% masenog udjela bioaktivnog stakla sa 74% kristalnosti poboljšava mehanička svojstva SIC-a (111). Bioaktivna i antimikrobna svojstva stakla ovise o njegovom sastavu, strukturi i kinetici oslobađanja iona, zbog čega se sve više koristi u stomatologiji (112). Učinak modifikacije SIC-a koji sadrže stroncij, kao što su Fuji IX (GC, Tokio, Japan) i

Equia Forte HT Fil (GC, Tokio, Japan) eksperimentalnim bioaktivnim staklom koji sadrži cink i fluorid, nije proučavan, prema dostupnoj literaturi.

Mehanička svojstva konvencionalnih SIC inferiorna su mehaničkim svojstvima kompozitnih smola, ali klinička učinkovitost novijih materijala na bazi SIC pokazala se usporedivom s učinkovitošću kompozitnih smola u kavitetima I. razreda i manjim kavitetima II. razreda (28,113). Mehanička svojstva poboljšavaju se većim omjerom praha i tekućine, malim reaktivnim staklenim česticama i nano-punjenim premazom (28,114). S obzirom na napredak u mehaničkim svojstvima visokoviskoznih staklenoionomernih cemenata i staklenohibridnih materijala te njihova svojstva otpuštanja iona, ovi materijali mogu biti poželjniji izbor kada je kariostatski i remineralizacijski učinak ključan, kao što je to slučaj kod pacijenata s visokim rizikom od karijesa (43).

Na dugovječnost restauracija od staklenoionomernog cementa utječu okluzalne sile, poroznost u stvrdnutom cementu, isušivanje ili apsorpcija vode tijekom početnog stvrdnjavanja i upotreba miješanog cementa nakon gubitka sjaja. Nadalje, veće čestice staklenoionomernog cementa smanjuju stopu trošenja (16). Procjena mehaničkih svojstava poput Vickersove mikrotvrdoće (VHN) restaurativnih materijala korisna je i praktična metoda za procjenu njihove mehanike.

1.6. Mikrotvrdoća

Mikrotvrdoća je jedno od ključnih svojstava koje se koristi za procjenu mehaničke otpornosti dentalnih materijala, posebice onih koji dolaze u izravan kontakt s oralnim okruženjem. U slučaju staklenoionomernih cemenata, koji se ističu svojom sposobnošću kemijskog vezivanja za zubna tkiva i otpuštanjem fluorida, očuvanje adekvatne mikrotvrdoće od presudne je važnosti za kliničku dugotrajnost ispuna, posebno u područjima okluzalne površine i cervikalnom dijelu zuba (115).

Mikrotvrdoća je povezana s otpornošću materijala na lokalizirane plastične deformacije pod djelovanjem opterećenja, te posredno može ukazivati na stupanj polimerizacije, stupanj ionske izmjene, strukturalnu homogenost i stupanj kristalizacije unutar materijala (116). Kod SIC-a se mikrotvrdoća povećava s vremenskim odmakom zbog nastavka

processa stvrđnjavanja (maturacije) koji uključuje dodatnu ionsku difuziju, hidrataciju i stvaranje kompleksa između iona aluminija i karboksilatnih skupina iz poliakrilne kiseline (17).

Uvođenjem bioaktivnog stakla kao modifikatora u SIC može doći do promjena u unutarnoj mikrostrukturi i ionskoj ravnoteži, što može pozitivno ili negativno utjecati na mikrotvrdoću. S jedne strane, dodatak bioaktivnog stakla može poboljšati ionsko otpuštanje (npr. kalcija i fosfata) i potaknuti formiranje apatita na površini, što doprinosi remineralizaciji i potencijalno većoj površinskoj tvrdoći. S druge strane, prisutnost inertnijih čestica ili narušavanje ravnoteže između staklene komponente i tekuće faze može oslabiti strukturalnu koheziju materijala (108, 109, 112, 113).

Praćenje mikrotvrdoće kroz vrijeme omogućuje uvid u dinamiku stvrđnjavanja i stabilizacije materijala te pruža važne informacije o interakcijama između matriksa SIC-a i dodatka bioaktivnog stakla. Time se mikrotvrdoća ne promatra samo kao indikator početne čvrstoće, već i kao mjera dugoročnog mehaničkog potencijala modificiranog materijala u kliničkim uvjetima. Dostupne su različite vrste ispitivanja tvrdoće koje se mogu klasificirati prema postupku opterećenja i geometriji utiskivača (117).

1.7. Procjena svojstava staklenoionomernih materijala modificiranih bioaktivnim staklom

1.7.1. Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom

Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (eng. *Fourier transform infrared spectroscopy*, FTIR) analitička je tehnika koja se koristi za mjerenje intenziteta i valne duljine infracrvenog (IR) zračenja apsorbiranog u uzorku, čime se dobivaju informacije o molekularnoj strukturi i kemijskim vezama (118). Riječ je o nedestruktivnoj analitičkoj metodi koja omogućuje pouzdanu i reproduktivnu analizu uzoraka na minimalnoj količini materijala. Metoda se temelji na promjenama dipolnog momenta molekula tijekom vibracija kemijskih veza, pri čemu apsorpcija infracrvenog zračenja nastaje na karakterističnim valnim duljinama. Valni brojevi ovise o vrsti uključenih atoma te jačini međumolekulskih i intramolekulskih interakcija, što omogućuje identifikaciju funkcionalnih skupina i strukturnih značajki analiziranog uzorka (119).

1.7.2. Masena spektrometrija s induktivno spregnutom plazmom

Masena spektrometrija s induktivno spregnutom plazmom (eng. *inductively coupled plasma mass spectrometry*, ICP-MS) analitička je tehnika koja se koristi za određivanje koncentracija elemenata i njihovih izotopa ionizacijom sastojaka uzorka u argonskoj (Ar) plazmi iznimno visoke temperature, nakon čega se generirani ioni detektiraju masenom spektrometrijom na temelju njihova omjera mase i naboja (m/z) (120). ICP-MS predstavlja jednu od najosjetljivijih tehnika elementarne analize te se široko primjenjuje za kvantifikaciju elemenata u tragovima i ultraelemenata u različitim područjima, uključujući analizu okoliša, prehrambene proizvode, medicinu, biomedicinske i životne znanosti, znanost o materijalima te industrijsku proizvodnju (121).

1.7.3. Ionski selektivna elektroda

Ionski selektivna elektroda je vrsta indikatorske elektrode čiji je električni potencijal membrane selektivno ovisan o aktivnosti određenih iona u otopini (122). Riječ je o elektrokemijskim sensorima koji omogućuju određivanje aktivnosti, odnosno koncentracije specifičnih iona u otopini. Idealna ionski selektivna elektroda sastoji se od tanke, selektivne membrane koja omogućuje prolaz isključivo ciljanog iona. Postoje četiri osnovne vrste ionski selektivnih membrana: staklene, kristalinične, enzimске i membrane od ionski izmjenjivačke smole (123). Difuzija iona iz područja više prema području niže koncentracije, posredovana selektivnim vezanjem na aktivna mjesta unutar membrane, stvara razliku potencijala, što predstavlja temeljni radni princip ionski selektivnih elektroda (124). Potenciometrijsko mjerenje izvodi se u zatvorenom krugu mjerenjem razlike električnog potencijala između indikatorske (ionski selektivne) i stabilne referentne elektrode uronjene u analit. Matematički opis odziva elektrode i ovisnost potencijala o aktivnosti primarnog iona definirani su Nernstovom jednačbom (125). U ovom istraživanju ionski selektivne elektrode korištene su za određivanje koncentracije fluoridnih i kalcijevih iona otpuštenih iz staklenoionomernih materijala.

Za selektivnu detekciju fluoridnih aniona koristi se kruta elektroda s membranom na bazi monokristala lantanova fluorida (LaF_3) dopiranog europijem (Eu^{2+}), što osigurava selektivnost i minimalan utjecaj stranih iona. Tijekom analitičkog postupka, uzorcima se dodaje pufer za podešavanje ukupne ionske jakosti (eng. *Total Ionic Strength Adjustment*

Buffer, TISAB) koji ima trostruku funkciju: održava konstantnu ionsku jakost medija, stabilizira pH vrijednost u optimalnom rasponu (čime se sprječava stvaranje fluorovodične kiseline i interferencija hidroksilnih iona) te kelira katione aluminijske i željezne koji bi se inače vezali za slobodne fluoridne ione (126).

Kalcijeve ionski selektivne elektrode sadrže selektivnu membranu koja omogućuje određivanje koncentracije kalcijevih iona u različitim medijima. Na elektrodu utječu promjene temperature, pH vrijednosti i koncentracije puferne otopine (127,128).

1.7.4. Mikrotvrdoća po Vickersu

Vickersovo ispitivanje tvrdoće koristi piramidalni utiskivač koji daje geometrijski slične otiske bez obzira na dubinu prodiranja. Na Vickersovom utisku mjere se dvije karakteristične duljine – dijagonale utiska, a prosječna duljina dijagonale koristi se za izračun površine utiska. Opterećenje podijeljeno s površinom daje Vickersov broj tvrdoće (117). Budući da se utisci mjere optičkim mikroskopom na mikroskopskoj skali, obvezna je priprema uzorka koja uključuje brušenje i poliranje kako bi se postigli pouzdani rezultati (117). Vickersova tvrdoća pokazuje koliko je materijal otporan na prodiranje još tvrdog tijela. Vrijednost Vickersove tvrdoće (HV) izračunava se iz veličine trajnog udubljenja. Što je udubljenje manje, to je materijal tvrdi. Vickersova tvrdoća posebno je prikladna za vrlo tanke materijale, fine strukture i širok raspon materijala (129).

Vickersova tvrdoća određena je jednadžbom:

$$HV = 2\sin 68^\circ (F/D^2) = 1,8544(F/D^2)$$

gdje je F opterećenje u kg, a D prosječna duljina dijagonale u mm (117).

1.7.5. Pretražni elektronski mikroskop sa spektroskopom za energijski razlučujuću rendgensku spektrometriju

Pretražni elektronski mikroskop (eng. *Scanning Electron Microscopy*, SEM) temelji se na interakciji snopa elektrona s uzorkom, pri čemu nastaju sekundarni i povratno raspršeni elektroni koji se koriste za formiranje slike. Sekundarni elektroni omogućuju analizu morfologije i topografije površine, dok povratno raspršeni elektroni pružaju kontrast u sastavu elemenata uzorka (130). Slike se prikazuju u stvarnom vremenu na

vanjskom monitoru pomoću softvera koji povezuje položaj elektronskog snopa s intenzitetom signala elektrona zabilježenog detektorima (131). Biološki uzorci obično sadrže visok udio vode te bez odgovarajuće pripreme mogu biti značajno oštećeni pri izlaganju vakuumu u SEM-u zbog isparavanja vode. Stoga priprema uzorka uključuje postupke fiksacije, dehidracije i sušenja. Nakon potpunog sušenja uzorak se montira na SEM nosač i oblaže tankim slojem vodljivog materijala (132). Pretražni elektronski mikroskop sa spektroskopom za energijski razlučujuću rendgensku spektrometriju (eng. *Scanning Electron Microscopy with Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy*, SEM-EDS) omogućuje istodobno snimanje visoko-rezolucijskih površinskih slika i analizu elementarnog sastava uzorka. SEM se široko primjenjuje zbog minimalnih zahtjeva za pripremu uzorka, izvrsne rezolucije, visokog kontrasta i velike dubine polja. Integracijom EDS sustava dodatno se omogućuje dobivanje kvalitativnih i polukvantitativnih podataka o elementarnom sastavu analiziranog područja, čime je SEM-EDS osobito prikladan za analize koje zahtijevaju veću rezoluciju od optičke mikroskopije i pouzdanu identifikaciju elemenata (133).

2. CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA

Istraživanje je pružilo informacije o otpuštanju fluoridnih i kalcijevih iona iz materijala modificiranih dvjema vrstama eksperimentalnog bioaktivnog stakla, što je važno za procjenu remineralizacijskog potencijala i karijesprotektivnog djelovanja eksperimentalnih restaurativnih materijala u neutralnim i kiselim uvjetima. Kiseli uvjeti simuliraju kritični pH pri kojem dolazi do otapanja kristala hidroksiapatita. Rezultati istraživanja doprinijeli su razvoju naprednih biointeraktivnih materijala uz očuvanje i moguće poboljšanje mikrotvrdoće.

Svrha ovog istraživanja je utvrditi kinetiku otpuštanja fluoridnih i kalcijevih iona iz viskoviskoznog staklenoionomernog cementa (SIC), staklohibridnog materijala te njihovih modifikacija dvjema vrstama eksperimentalnog bioaktivnog stakla.

Hipoteza: Materijali modificirani eksperimentalnim bioaktivnim staklom otpuštaju više fluoridnih i kalcijevih iona te imaju veću mikrotvrdoću od komercijalnih materijala Fuji IX i Equia Forte HT Fil.

Ciljevi istraživanja su:

1. istražiti kinetiku otpuštanja fluoridnih i kalcijevih iona u neutralnim uvjetima u komercijalnim materijalima i modificiranim materijalima
2. odrediti kinetiku otpuštanja kalcijevih iona u kiselim uvjetima
3. odrediti kinetiku otpuštanja fluoridnih iona nakon recharginga fluoridnim lakom
4. odrediti mikrotvrdoću komercijalnih i modificiranih materijala nakon maturacije u destiliranoj vodi
5. analizirati uzorke SEM-EDS metodom kako bi se detektirala precipitacija hidroksiapatitu sličnih apatita na površini komercijalnih i modificiranih materijala čuvanih u fosfatnom puferu (eng. *phosphate-buffered saline*, PBS).

3. MATERIJALI I METODE

Ovo eksperimentalno istraživanje je odobrio Etički odbor Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, 12.03.2025. KLASA: 003-01/25-05/03 URBROJ: 251-60-4/51-5

3.1. Komercijalni i eksperimentalni materijali korišteni u istraživanju

Komercijalno dostupni enkapsulirani materijali korišteni u studiji su: Fuji IX GP (GC Corporation, Tokio, Japan) i Equia forte HT Fil (GC Corporation, Tokio, Japan). Specifikacije materijala navedene su u tablici 1.

Tablica 1. Komercijalni materijali korišteni u istraživanju.

Materijal i LOT broj	Proizvođač	Sastav praha	Sastav tekućine
Fuji IX GP® 2210041	GC, Tokyo, Japan	Fluoro- aluminosilikatno staklo Prah poliakrilne kiseline	Poliakrilna kiselina Polibazna karboksilna kiselina
Equia Forte HT Fil® 2212091	GC, Tokyo Japan	Fluoro- aluminosilikatno staklo (92–97%), Prah poliakrilne kiseline (3–8%), Pigmenti (u tragovima)	Poliakrilna kiselina (35–45%), Polibazna karboksilna kiselina (5–10%), Destilirana voda (45–55%)

Eksperimentalni prahovi bioaktivnog stakla obogaćenog cinkom ($< 30 \mu\text{m}$) koji sadrže fluorid pripremljeni su kako je prethodno opisano u radovima prof. Salvatorea Saura (101, 107). BAG-F pripremljen je postupkom taljenja i hlađenja. Sirovine su sinterirane zajedno u platinastom lončiću unutar električne peći na $1250 \text{ }^\circ\text{C}$ tijekom 1 sata, a zatim taljene tijekom 1 sata na $1350 \text{ }^\circ\text{C}$. Korištena je masa od približno 150 g. Nakon taljenja, stakla su brzo ohlađena u vodi kako bi se spriječila kristalizacija. Za termodinamičku analizu, stakla su drobljena u čeličnom mužaru i prosijana kako bi se dobila frakcija veličine čestica između 160 i $250 \mu\text{m}$. Za pokuse otapanja, stakla su mljevena u kugličnom mlinu i prosijana pomoću analitičkog sita od $32 \mu\text{m}$ (134).

BAG mikropunilo proizvedeno je taljenjem 46,1 mol% SiO₂, 26,9 mol% CaO, 24,4 mol% Na₂O i 2,5 mol% P₂O₅ uz dodatak ZnO (Aldrich Chemical Co, Gillingham, UK) u platinastom lončiću pri 10 °C/min do 1100 °C i održavanjem tijekom 1 sata. Nakon toga temperatura je povišena na 1450 °C (10 °C/min) i održavana dodatnih 30 minuta. Talina stakla brzo je ugašena u vodi (~20 °C), dehidrirana u apsolutnom etanolu tijekom 3 sata, sušena preko noći u peći na 110 °C, mljevena i na kraju prosijana (< 20 µm) (100).

3.1.1. Kvalitativna analiza eksperimentalnog bioaktivnog stakla FTIR spektroskopijom

Infracrveni (IR) spektri uzoraka krutih tvari 1 (BAG-F) i 2 (BAG) snimljeni su pomoću Thermo Scientific Nicolet iS50 FTIR spektrometra opremljenog dodatkom za smanjenu totalnu refleksiju (ATR). Spektri su prikupljeni u rasponu valnih brojeva 4000 – 200 cm⁻¹ na sobnoj temperaturi, sa spektralnom rezolucijom od 4 cm⁻¹, s prosjekom od 32 skeniranja po uzorku kako bi se poboljšao omjer signal-šum. Praškasti uzorak BAG-F analiziran je izravno u krutom stanju bez dodatne pripreme, dok je BAG sadržavao veće čestice te je stoga samljeven prije mjerenja kako bi se osigurao jednolik kontakt s ATR kristalom.

3.1.2. Kvantitativni sastav prahova komercijalnih materijala i eksperimentalnog bioaktivnog stakla ICP- MS

Uzorci Fuji IX, Equia i eksperimentalnih BAG prahova podvrgnuti su elementarnoj analizi korištenjem masene spektrometrije s induktivno spregnutom plazmom (eng. *inductively coupled plasma mass spectrometry*, ICP-MS) nakon prethodnog koraka mikrovalne digestije. Za razgradnju uzoraka korištena je kombinacija dušične kiseline, klorovodične kiseline i fluorovodične kiseline. Otprilike 20 mg usitnjenog uzorka izvagano je i pomiješano s 3 mL klorovodične kiseline (Suprapur, 30%, Merck, Njemačka), 3 mL dušične kiseline (Ultra-pur, 60%, Merck Njemačka) i 100 µL fluorovodične kiseline (pro analysi, 40%, Merck, Njemačka) u teflonskoj posudi za digestiju. Nakon toga, posude su stavljene u mikrovalni sustav (Multiwave GO, Anton Paar) gdje je primijenjen sljedeći temperaturni program: 10 min na 130 °C, 20 min na 180 °C i 15 min na 150 °C. Nakon procesa digestije, bistre otopine su ostavljene da se ohlade na sobnu temperaturu, a zatim su prebačene u epruvete od 50 mL i napunjene

deioniziranom vodom. Prije mjerenja sve digestirane otopine su filtrirane i razrijeđene 1:1000 dušičnom kiselinom (3%, v/v).

Elementarna analiza uzoraka masenom spektrometrijom s induktivno spregnutom plazmom (Agilent 7900 ICP-MS, Agilent, Tokio, Japan) provedena je nakon prethodnog koraka mikrovalne digestije pod sljedećim eksperimentalnim uvjetima: izlazna snaga 1500 W, protok 0,9 L/min Ar kao pomoćnog plina i 0,2 L/min Ar kao plina za raspršivanje. Korišten je raspršivač MicroMist s protokom uzorka od 0,3 mL/min. Nakon raspršivanja, uzorak je prošao kroz Scottovu komoru za dvostruko raspršivanje. Analiza je usmjerena na sljedeće elemente, navedene redoslijedom rastućeg m/z (omjer mase i naboja): 23Na, 27Al, 28Si, 31P, 43Ca, 66Zn, 88Sr. Kvantifikacija odabranih elemenata postignuta je korištenjem vanjskih kalibracijskih krivulja s pet ili šest točaka, a rasponi kalibracije prilagođeni su prema očekivanim razinama koncentracije svakog analita. Sva mjerenja su provedena u triplikatu. Radni parametri instrumenta bili su: dubina uzorka 10 mm; ORS način rada bez plina/He; protok plina nosača nebulizatora 1,09 L min⁻¹; Leća Ext 1 (V) 0; Leća Ext 2 (V) -190; RF snaga 1550 W; RF usklađivanje 1,80 W; Način detekcije - Spektralni; Vrijeme integracije - 0,1 s; Ponavljanja - 3.

3.2. Otpuštanje fluoridnih iona

3.2.1. Skupine

Za ispitivanje kinetike otpuštanja fluoridnih iona pripravljene su sljedeće skupine uzoraka:

1. Fuji IX, F
2. Equia Forte HT, E
3. Fuji IX modificiran bioaktivnim staklom BAG, FB
4. Fuji IX modificiran bioaktivnim staklom BAG-F, FBF
5. Equia Forte HT modificirana bioaktivnim staklom BAG, EB
6. Equia Forte HT modificirana bioaktivnim staklom BAG-F, EBF

3.2.2. Veličina uzorka

S obzirom na planirani nacrt istraživanja: usporedbu 6 skupina uzoraka kroz 7 vremenskih točaka prije i nakon fluoridacije, za power analizu trebali smo procijeniti očekivanu veličinu efekta (eng. *effect size*). S obzirom na postojanje testiranja sličnih materijala u različitim tipovima ispitivanja u dostupnoj literaturi odabrali smo studiju koja uspoređuje otpuštanje fluorida kod sličnih materijala: Taqa i sur. (135). Veličina efekta, η^2 određena je količnikom sume kvadrata između skupina ($SS_{\text{između skupina}}$) i ukupne sume kvadrata (SS_{ukupno}). Kod usporedbe skupina u radu koji je korišten kao pilot, veličina efekta bila je 0,85, što je prema Cohenovoj klasifikaciji vrlo veliki efekt. Mi smo za procjenu potrebne veličine uzorka konzervativno odabrali veličinu efekta 0,5. Korelacija među mjerenjima procijenjena je na osnovu podataka o otpuštanju fluorida u studiji De Witte i suradnici (49). Ta studija pokazuje da je količina otpuštenih fluorida drugog, trećeg i četvrtog dana nakon miješanja materijala ili fluoridacije 10% veća u odnosu na prvi dan. Budući da naša studija koristi kumulativne vrijednosti fluorida za usporedbu materijala, čak i uz konzervativnu pretpostavku da je korelacija otpuštanja fluorida prvog i drugog dana jednaka nuli, korelacija u kumulativnim vrijednostima može se procijeniti na 0,995. Ako s f_1, f_2 itd. označimo vrijednosti fluorida mjerene prvog, drugog itd. dana, a s c_1, c_2 kumulativne vrijednosti, tako da je $c_1 = f_1, c_2 = f_1+f_2$ itd., imamo

$$r_{\{c_1, c_2\}} = \frac{\text{Cov}(c_1, c_2)}{\sigma_{c_1} \sigma_{c_2}} \leq \frac{\sigma_{c_1}^2}{\sigma_{c_1} \sigma_{c_2}},$$

jer smo pretpostavili (konzervativno da je korelacija otpuštanja fluorida prvog i drugog dana jednaka nuli. Korištenjem pravila o varijanci sume, imamo da je $\text{Var}(c_2) = \text{Var}(c_1+f_2) = \text{Var}(c_1)+\text{Var}(f_2)+2\text{Cov}(c_1, f_2)$, odnosno $\sigma_{c_2} = \sigma_{c_1}(1+0,01)=1,01\sigma_{c_1}$

$$r_{\{c_1, c_2\}} = \frac{\text{Cov}(c_1, c_2)}{\sigma_{c_1} \sigma_{c_2}} \leq \frac{\sigma_{c_1}^2}{\sigma_{c_1} \sqrt{\{\sigma_{c_1}^2 + 1,01 \sigma_{c_1}^2\}}} = 0,995.$$

Jasno je dakle da je naša pretpostavka

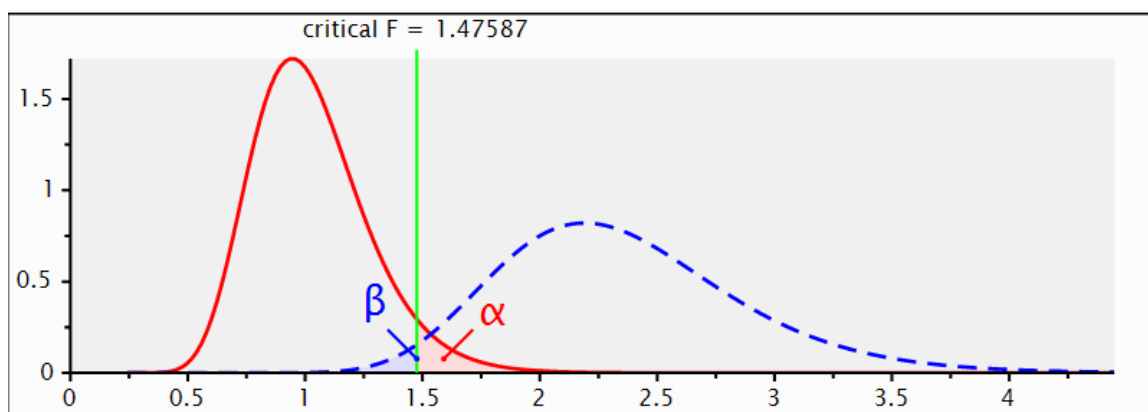
da je korelacija među mjerenjima od 0,5 razumna pretpostavka.

Nulta hipoteza (H_0) pretpostavlja da između promatranih skupina ne postoji statistički značajna razlika. Alternativna hipoteza (H_1) pretpostavlja da postoji statistički značajna razlika između najmanje dvije skupine. α (alfa) predstavlja vjerojatnost pogreške tipa I, odnosno odbacivanja nulte hipoteze kada je ona zapravo točna (lažno pozitivan rezultat).

U ovom istraživanju postavljena je na 0,05, što znači da je dopušten 5 %-tni rizik takve pogreške. β (beta) predstavlja vjerojatnost pogreške tipa II, odnosno neprihvatanja alternativne hipoteze kada stvarna razlika postoji (lažno negativan rezultat). Snaga testa $(1 - \beta)$ označava vjerojatnost da će statistički test ispravno otkriti stvarno postojeću razliku.

Veličina efekta (0,5), broj grupa (6), očekivana korelacija među mjerenjima (0,5), broj mjerenja (14), odabrana razina statističke značajnosti (0,05) i željeni power ispitivanja (0,95), dali su nam potreban uzorak $N_{\text{po skupini}} = 12$, $N_{\text{ukupno}} = 72$.

Parametri power analize prikazani su na slici 2. Analiza je provedena u programu G*Power Version 3.1.9.6.



Slika 2. Grafički prikaz izračuna veličine uzorka za otpuštanje fluoridnih iona. Na x-osi prikazane su vrijednosti F-statistike, dok y-os prikazuje gustoću vjerojatnosti. Puna crvena krivulja predstavlja raspodjelu pod nulnom hipotezom (H_0), a isprekidana plava pod alternativnom hipotezom (H_1). Kritična vrijednost označena je zelenom linijom. Površina ispod crvene krivulje desno od kritične vrijednosti označava α pogrešku, dok površina lijevo od nje ispod plave krivulje predstavlja β pogrešku.

3.2.3. Priprema uzoraka za mjerenje oslobađanja fluoridnih iona

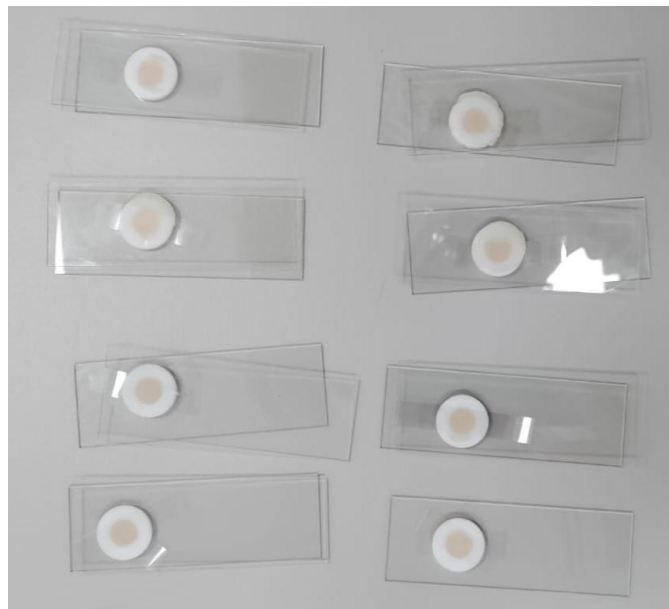
Za pripremu uzoraka staklenih ionomera modificiranih BAG-F-om i BAG-om, kapsule komercijalnih materijala pažljivo su otvorene pomoću kliješta za ekstrakciju donjih molara, tako da se tekućina koja okružuje membranu ne ošteti. Svaka kapsula sadržavala je 0,4 g praha. Sadržaj 13 kapsula za mjerenje fluorida prebačen je u mužar i izvagan. Pet posto mase staklenog praha zamijenjeno je istom masom eksperimentalnog BAG praha. Smjesa je ručno miješana mužarom i tučkom 10 minuta kako bi se postigla što homogenija raspodjela. Svaka od 12 kapsula pažljivo je zatvorena. Ostaci modificiranog praha mase manje od 0,4 g odbačeni su.



Slika 3. Priprema uzoraka za mjerenje otpuštanja fluorida.

Kapsule komercijalnih i eksperimentalnih materijala modificiranih s 5% BAG-a i BAG-F aktivirane su i miješane u 3M™ ESPE™ CapMix™ (3M ESPE, Seefeld, Njemačka) tijekom 10 sekundi, prema uputama proizvođača, a uzorci su pripremljeni pomoću

cilindričnih teflonskih kalupa dimenzija 5 mm x 2 mm (136). Kako bi se izbjeglo zadržavanje zraka, poliesterske trake postavljene su ispod kalupa na staklenoj pločici, a materijal je lagano komprimiran s obje strane kalupa staklom. Uzorci su se stvrdnjavali jedan sat.

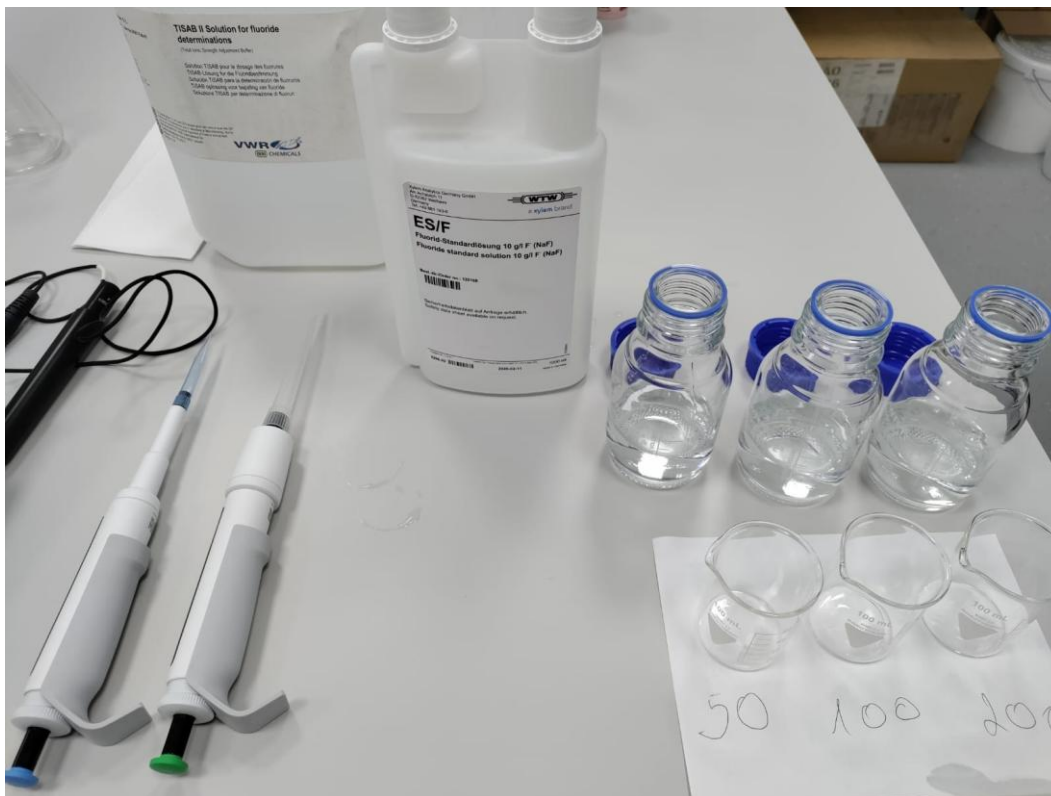


Slika 4. Stvrdnjavanje uzoraka.

3.2.4. Mjerenja otpuštanja fluorida

Analiza koncentracija iona u vodenim otopinama provedena je u skladu s normom ISO 19448:2018 (137).

Nakon početnog stajanja od jednog sata, uzorci su pohranjeni u bočicama (Laboroprema, Zagreb, Hrvatska) s 5 mL deionizirane vode na 37 °C u inkubatoru ES 120 (Nüve, Ankara, Turska). Prije mjerenja, uzorci materijala su izvađeni iz bočica i osušeni upijajućim papirom. Koncentracije fluorida u vodenim otopinama kvantificirane su pomoću ionsko-selektivne elektrode (F800 DIN, Xylem Analytics Njemačka, Weilheim, Njemačka) spojene s analizatorom iona (inoLab Multi 9630 DS; Xylem Analytics Njemačka, Weilheim, Njemačka). Kalibracija elektrode provedena je svakodnevno korištenjem niza standardnih otopina (50 mg/L NaF, 100 mg/L NaF, 200 mg/L NaF,).



Slika 5. Priprema standarda za kalibraciju fluor-selektivne elektrode.



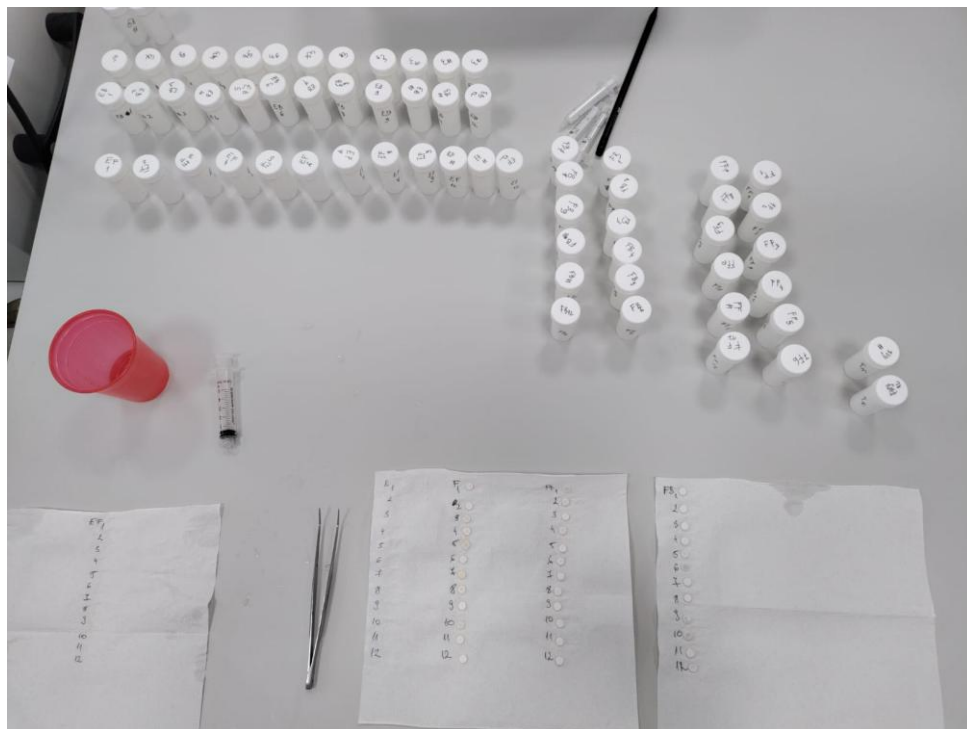
Slika 6. Kalibracija fluor-selektivne elektrode.

Nakon svakog mjerenja, elektroda je isprana svježom deioniziranom vodom i osušena upijajućim papirom. Alikvot od 5 mL vodene otopine u koju su prethodno uronjeni uzorci materijala pomiješan je s dodatnih 5 mL pufera za podešavanje ukupne ionske jakosti (Merck KGaA, Darmstadt, Njemačka), a koncentracije fluorida određene su u tri ponavljanja nakon 5-minutnog razdoblja inkubacije. Rezultati su izraženi u mg/L (ppm je izračunat pomoću sljedeće formule: $\text{ppm} = \text{mg/L} \div \rho(\text{H}_2\text{O})/\text{g/mL}$). Nakon što su mjerenja završena, svaki uzorak materijala prebačen je u bočicu sa svježom deioniziranom vodom i pohranjen u inkubator do sljedećeg mjerenja. Mjerenja oslobađanja fluoridnih iona provedena su nakon 24 sata te 2., 3., 4., 7., 14., 21. i 91. dana.

Nakon 91 dana od miješanja i maturacije u deioniziranoj vodi uzorci ($N_{\text{ukupno}} = 72$) su osušeni na zraku sat vremena te izloženi djelovanju (eng. *recharging*) fluoridnog laka Fluor protector gel (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) tijekom 5 minuta. Uklonjen je višak laka te su fluoridirani uzorci pohranjeni u individualne posude u deioniziranu vodu i inkubator na 37 °C. Nakon ponovnog punjenja, ponovno oslobađanje fluorida zabilježeno je nakon 1, 2, 3, 4, 7, 14 i 21 dana, odnosno 92., 93., 94., 95., 105. 112. i 119. dan od miješanja.



Slika 7. Uzorci pohranjeni u individualne označene posude.



Slika 8. Priprema za mjerenje koncentracije otpuštenih fluoridnih iona.



Slika 9. Mjerenje koncentracije otpuštenih fluoridnih iona fluor-selektivnom elektrodom.

3.2.5. Statistička analiza

Pouzdanost mjerenja oslobađanja iona provjerena je Pearsonovim koeficijentom korelacije (test-retest korelacije) za sve skupine u svim vremenskim točkama. Korelacije između različitih mjerenja bile su veće od 0,999, sa zajedničkom varijancom većom od 99,8%. Normalnost distribucije podataka provjerena je Shapiro-Wilkovim testom, dok je homogenost varijanci testirana Leveneovim testom za oslobađanje fluorida i kalcijevih iona, pa su za sva tri seta mjerenja provedeni ANOVA i post-hoc LSD (Least Significant Difference) test. Analiza je provedena pomoću SAS statističkog paketa na Windows platformi. Razina značajnosti postavljena je na $p = 0,05$.

Sve analize provedene su korištenjem IBM SPSS softvera, v. 21.

3.3. Otpuštanje kalcijevih iona

3.3.1. Skupine

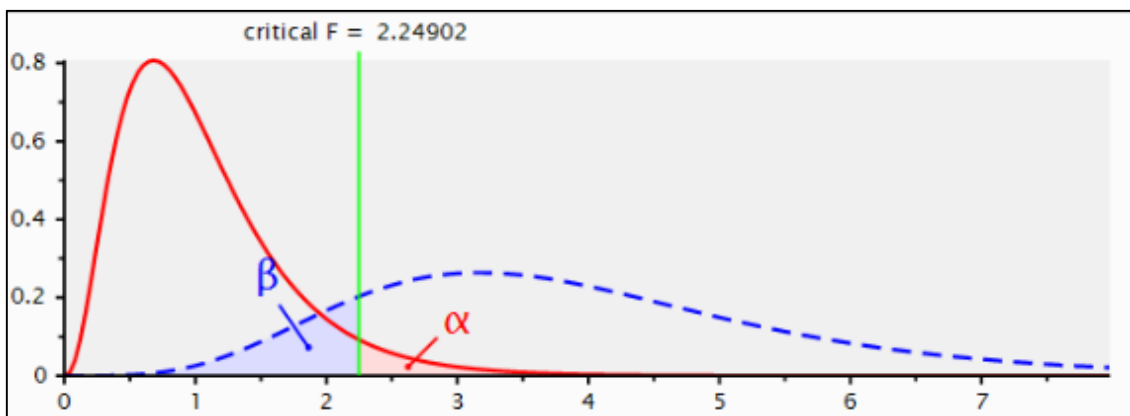
Za mjerenje otpuštanja kalcijevih iona pripravljene su sljedeće skupine:

1. Fuji, F
2. Equia, E
3. Fuji modificiran bioaktivnim staklom BAG-F, FB
4. Equia modificirana bioaktivnim staklom BAG-F, EB

Svaka skupina je dalje podijeljena u 2 podskupine prema mediju za pohranu: deionizirana voda i mliječna kiselina pH 5,4 (L) pa tako dobivamo ukupno 8 podskupina uzoraka.

3.3.2. Veličina uzorka

Power analizom (G*Power verzija 3.1.9.7) dobiveno je da za korelaciju razinu značajnosti alfa 0,05 i korelaciju 0,8 potrebna veličina uzorka za snagu iznad 0,85 iznosi 48, što je grafički prikazano na slici 10, dok je naša veličina uzorka 80. Stvarna snaga za tu veličinu uzorka je 0,857. Ukupno imamo 4 skupine po 20 uzoraka, odnosno 8 podskupina po 10 uzoraka, dakle, $N_{\text{ukupno}} = 80$.



Slika 10. Grafički prikaz izračuna veličine uzorka za otpuštanje kalcijevih iona. Na x-osi prikazane su vrijednosti F-statistike, dok y-os prikazuje gustoću vjerojatnosti F-distribucije za nul-hipotezu (crvena krivulja) i alternativnu hipotezu (plava krivulja). Zelena linija označava kritičnu F-vrijednost. α predstavlja vjerojatnost pogreške tipa I, dok β predstavlja vjerojatnost pogreške tipa II.

3.3.3. Priprema uzoraka za mjerenje oslobađanja kalcijevih iona

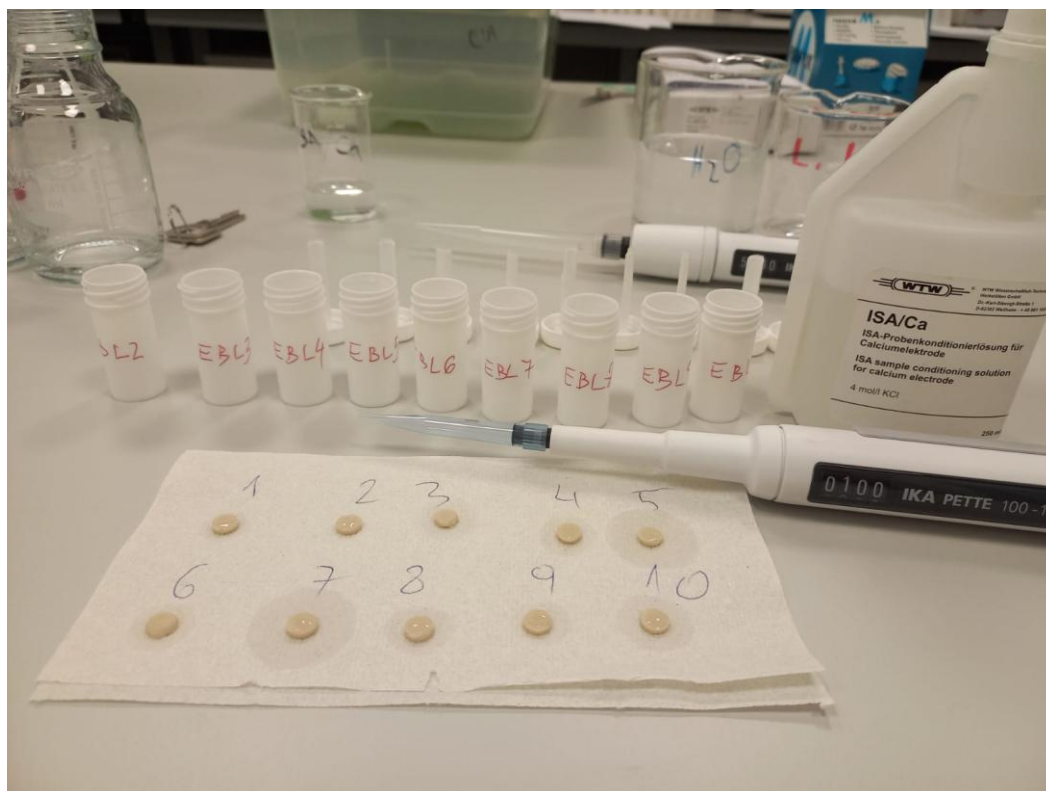
Za pripremu uzoraka staklenih ionomera modificiranih BAG-F-om, kapsule komercijalnih materijala pažljivo su otvorene pomoću kliješta za ekstrakciju donjih molara, tako da se tekućina koja okružuje membranu ne ošteti. Svaka kapsula sadržavala je 0,4 g praha. Sadržaj 21 kapsule prebačen je u mužar i izvagan. Pet posto mase staklenog praha zamijenjeno je istom masom eksperimentalnog BAG-F praha. Smjesa je ručno miješana mužarom i tučkom 10 minuta kako bi se postigla što homogenija raspodjela. Svaka od 20 kapsula pažljivo je zatvorena. Ostaci modificiranog praha mase manje od 0,4 g odbačeni su.

Kapsule komercijalnih i eksperimentalnih materijala modificiranih s 5% BAG-F aktivirane su i miješane u 3M™ ESPE™ CapMix™ (3M ESPE, Seefeld, Njemačka) tijekom 10 sekundi, prema uputama proizvođača, a uzorci su pripremljeni pomoću cilindričnih teflonskih kalupa dimenzija 5 mm x 2 mm (136). Kako bi se izbjeglo zadržavanje zraka, poliesterske trake postavljene su ispod kalupa na staklenoj pločici, a materijal je lagano komprimiran s obje strane kalupa staklom. Uzorci su se stvrdnjavali jedan sat.

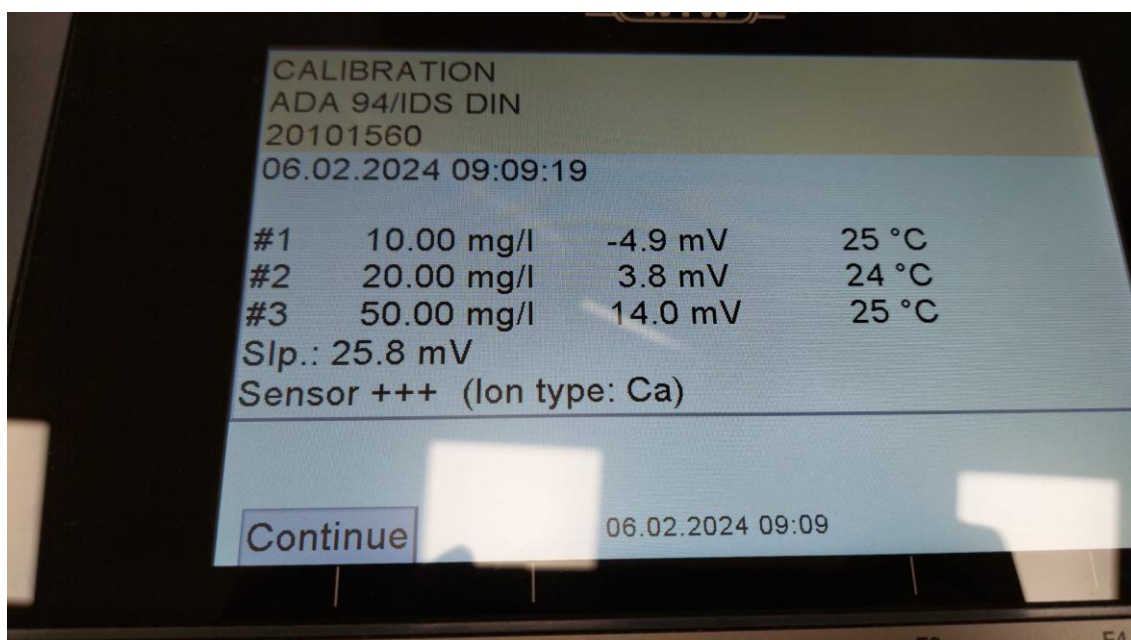
3.3.4. Mjerenja otpuštanja kalcijevih iona

Analiza koncentracija iona u vodenim otopinama provedena je u skladu s normom ISO 19448:2018 (137).

Nakon početnog stajanja od jednog sata, uzorci su pohranjeni u bočicama (Laboroprema, Zagreb, Hrvatska) s 5 mL deionizirane vode na 37 °C u inkubatoru ES 120 (Nüve, Ankara, Turska). Prije mjerenja, uzorci materijala su izvađeni iz bočica i osušeni upijajućim papirom. Otpuštanje kalcija određeno je pomoću kalcij-selektivne elektrode Ca 800 DIN (Xylem Analytics Germany GmbH, Weilheim, Njemačka). Svaka skupina je podijeljena prema mediju za pohranu: deionizirana voda ili razrijeđena otopina mliječne kiseline pH 5,4 (L). Prije mjerenja, uzorci su uklonjeni iz medija za pohranu i dodano je 2% otopine ISA/Ca (WTW, Weilheim, Njemačka). Svakodnevno je prije analize koncentracije iona izvršena kalibracija uređaja na 10 mg/L, 20 mg/L i 50 mg/L kalcija korištenjem standardne otopine. Mjerenja su izvršena u triplicatu za svaki uzorak nakon 24 sata, 4 dana, 7 dana, 14 dana i 21 dan. Između mjerenja elektroda se ispirala svježom deioniziranom vodom i sušila upijajućim papirom. Rezultati su izraženi u miligramima po litri (mg/L). Nakon što su mjerenja završena, svaki uzorak materijala prebačen je u bočicu sa svježom deioniziranom vodom i pohranjen u inkubator do sljedećeg mjerenja.



Slika 11. Priprema otopine za mjerenje koncentracije otpuštenih kalcijevih iona.



Slika 12. Kalibracija kalcij-selektivne elektrode.



Slika 13. Mjerenje koncentracije otpuštenih iona kalcij-selektivnom elektrodom.

3.3.5. Statistička analiza

Pouzdanost mjerenja oslobađanja iona provjerena je Pearsonovim koeficijentom korelacije (test-retest korelacije) za sve skupine u svim vremenskim točkama. Gotovo sve korelacije bile su vrlo visoke ($> 0,9$), dok je najniža vrijednost uočena u skupini E pri mjerenju nakon 14 dana (0,74). Stoga su za svaki uzorak korištena srednja mjerenja.

Normalnost distribucije podataka provjerena je Shapiro-Wilkovim testom, dok je homogenost varijanci testirana Leveneovim testom za oslobađanje fluorida i kalcijevih iona, pa su za sva tri seta mjerenja provedeni ANOVA i post-hoc LSD (Least Significant Difference) test. Analiza je provedena pomoću SAS statističkog paketa na Windows platformi. Razina značajnosti postavljena je na $p = 0,05$.

Sve analize su provedene korištenjem IBM SPSS softvera, v. 21.

3.4. Mjerenje mikrotvrdoće uzoraka

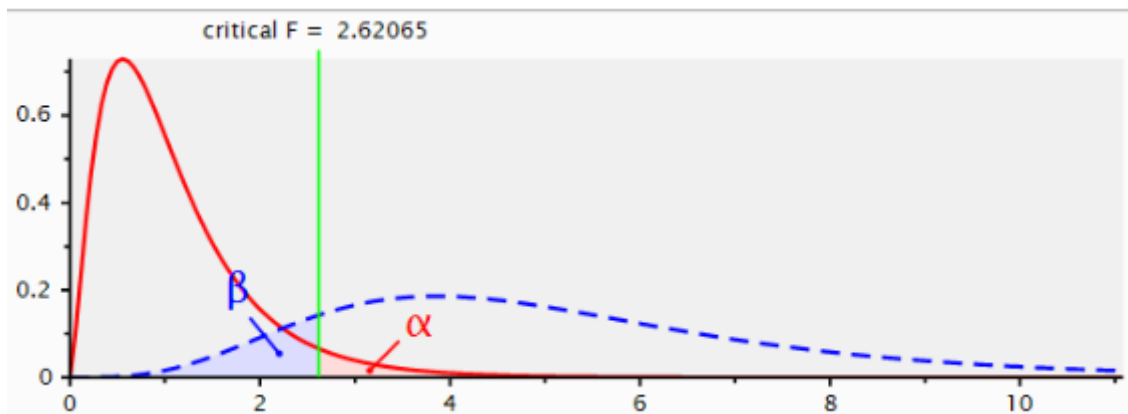
3.4.1. Skupine

Za mjerenje mikrotvrdoće pripravljene su sljedeće skupine uzoraka:

1. Fuji IX, F
2. Equia Forte HT, E
3. Fuji IX modificiran bioaktivnim staklom BAG, FB
4. Fuji IX modificiran bioaktivnim staklom BAG-F, FBF
5. Equia Forte HT modificirana bioaktivnim staklom BAG, EB
6. Equia Forte HT modificirana bioaktivnim staklom BAG-F, EBF

3.4.2. Veličina uzorka

A priori analiza snage za analizu varijance s fiksnim efektima provedena je pomoću G*Power softvera (verzija 3.1.9.7). Veličina učinka procijenjena je na temelju vlastitih podataka iz pilot studije, tj. prosjeka grupe i zajedničke standardne devijacije. Za dobivenu veličinu učinka od 0,8, razinu značajnosti od 0,05, broj grupa od 6 i željenu snagu od 0,85, minimalna potrebna veličina uzorka je 5 za svaku skupinu, a stvarna snaga je tada 0,871. To je prikazano na slici 14. Za 6 skupina po 10 uzoraka snaga prelazi 0,99. Dakle, $N_{\text{ukupno}} = 60$.



Slika 14. Grafički prikaz izračuna veličine uzorka za ispitivanje mikrotvrdoće. Na x-osi prikazane su vrijednosti F-statistike, dok y-os prikazuje gustoću vjerojatnosti. Puna crvena krivulja predstavlja raspodjelu pod nultom hipotezom (H_0), a isprekidana plava pod alternativnom hipotezom (H_1). Kritična vrijednost označena je zelenom linijom. Površina ispod crvene krivulje desno od kritične vrijednosti označava α pogrešku, dok površina lijevo od nje ispod plave krivulje predstavlja β pogrešku.

3.4.3. Priprema uzorka

Za pripremu uzoraka staklenoionomera modificiranih BAG-ovima, kapsule komercijalnih materijala pažljivo su otvorene korištenjem kliješta za ekstrakciju donjih molara, tako da membrana koja okružuje tekućinu nije oštećena. Svaka kapsula sadržavala je 0,4 g praha. 5 % mase staklenog praha zamijenjeno je istom masom eksperimentalnog BAG praha.

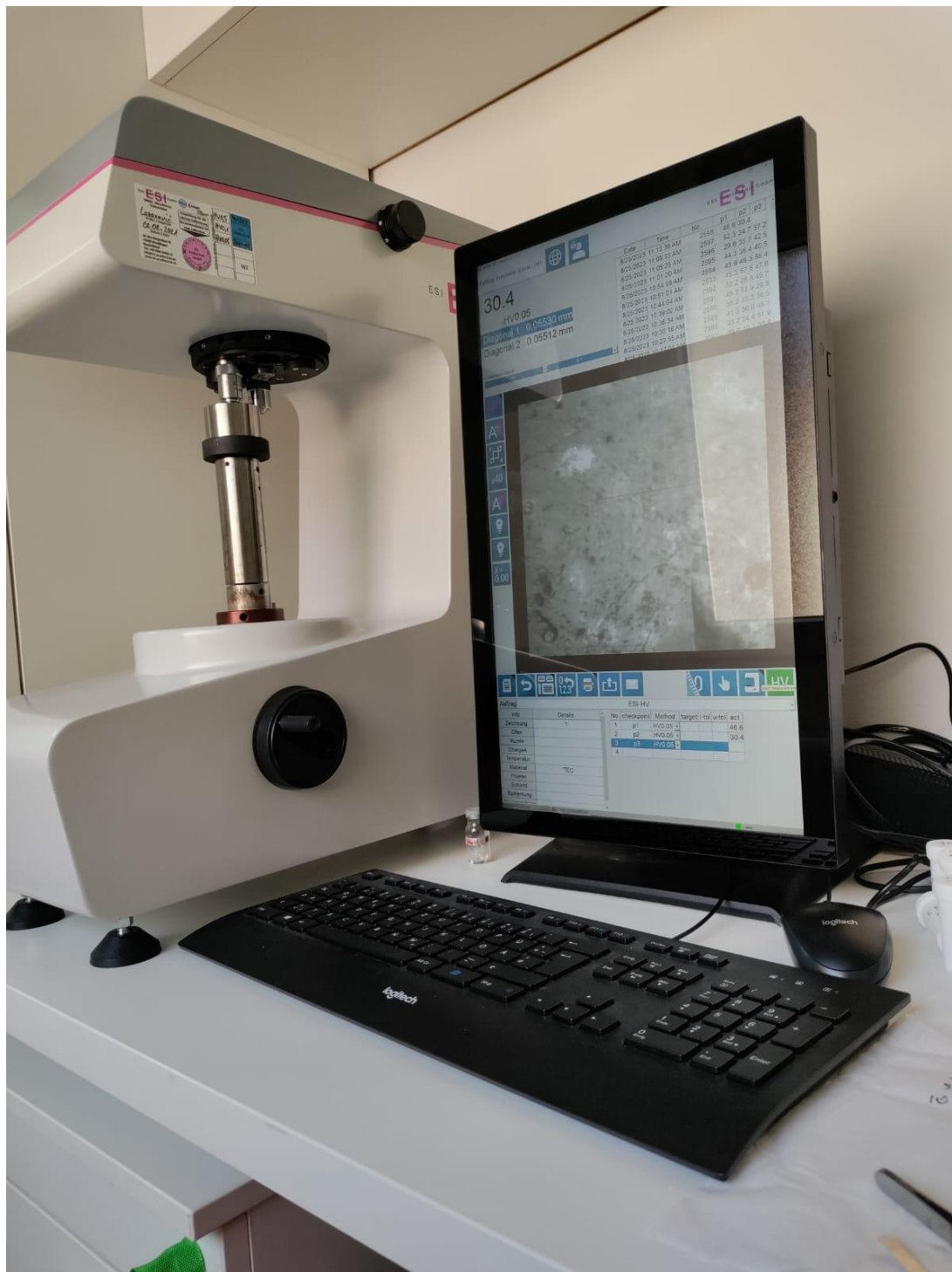
Kapsule komercijalnih i eksperimentalnih materijala modificiranih BAG-om u masenom udjelu od 5 % aktivirane su i miješane u 3M™ ESPE™ CapMix™ (3M ESPE, Seefeld, Njemačka) tijekom 10 sekundi, prema uputama proizvođača, a uzorci su pripremljeni pomoću cilindričnih teflonskih kalupa dimenzija 8 mm x 2 mm (17). Kako bi se izbjeglo zadržavanje zraka, poliesterske trake postavljene su ispod kalupa na staklenu pločicu, a materijal je lagano komprimiran s obje strane kalupa staklom. Uzorci su ostavljeni da se stvrdnu jedan sat, a zatim su nježno izvađeni iz kalupa. Površine uzoraka polirane su i izravnane tijekom 20 sekundi silikonskim karbidnim diskovima brojeva 320, 800 i 1200

(Metkon Gripo 2V polirka, Metkon Instruments Inc., Bursa, Turska). Svaki uzorak materijala prebačen je u bočicu koja sadrži 5 mL destilirane vode te pohranjen u na 37 °C u inkubatoru ES 120 (Nüve, Ankara, Turska).

3.4.4. Ispitivanje mikrotvrdoće

Mjerenja tvrdoće po Vickersu provedena su na označenoj površini u tri ponavljanja u razdoblju od 24 sata i 7 dana nakon miješanja uzoraka.

Vickersova mikrotvrdoća (HV) površine materijala određena je uređajem za mjerenje mikrotvrdoće (CSV-10; ESI Prüftechnik GmbH, Wendlingen, Njemačka) korištenjem opterećenja od 50 g i vremena zadržavanja od 10 s. Dijamantni utiskivač utisnut je u površinu materijala. Zatim su izmjerene dubina i veličina nastalog udubljenja, a ti su podaci korišteni za izračun vrijednosti tvrdoće po Vickersu. Prije mjerenja, uzorci su ostavljeni da se suše na papirnoj maramici najmanje 60 minuta. Između mjerenja, uzorci su pohranjeni u destiliranoj vodi.



Slika 15. Mikrotvrdomer za mjerenje mikrotvrdoće.



Slika 16. Mjerenje mikrotvrdoće na uzorku.

3.4.5. Statistička analiza

Statistička analiza provedena je korištenjem SPSS verzije 21 (IBM SPSS Statistics Armonk, NY, SAD).

Normalnost raspodjele testirana je Shapiro-Wilkovim testom, a homogenost varijance Leveneovim testom. Podaci o statistički značajnim razlikama između skupina analizirani su analizom varijance (ANOVA) i post hoc testom najmanjih značajnih razlika (LSD) s Bonferronijevom korekcijom, a razina značajnosti postavljena je na $\alpha = 0,05$.

Za ispitivanje statistički značajnih razlika unutar skupina kroz vrijeme proveden je upareni t-test za usporedbu jedne skupine u dvije vremenske točke za sve skupine osim za EF skupinu za koju je korišten Wilcoxonov test.

3.5. SEM-EDS analiza

Po jedan reprezentativni uzorak iz svih šest skupina materijala bio je pohranjen u PBS tijekom 45 dana, nakon čega se sušio 30 dana na zraku i 10 dana u vakuumu. Površinsko snimanje (v. sliku 17) provedeno je pretražnim elektronskim mikroskopom (v. sliku 18) JSM-7000F (JEOL Ltd., Tokio, Japan) postavljenim na napon od 5 kV, radnu udaljenost od 10 mm i povećanje od 100×, 1000×, 2000x i 5000×. Elementarni podaci dobiveni su pomoću Inca 350 EDS sustava (Oxford Instruments, High Wycombe, UK). Prije analize uzorci su nježno očišćeni četkicom kako bi se uklonile sve labave površinske čestice, a zatim osušeni na zraku. Ova priprema pomogla je u jasnijem otkrivanju površinske topografije i omogućila EDS sustavu da s većom pouzdanošću identificira prisutne elemente. Ova priprema jasnije je prikazala površinsku topografiju i omogućila EDS sustavu da s većom pouzdanošću identificira prisutne elemente.



Slika 17. Uzorci pripremljeni za SEM-EDS analizu.



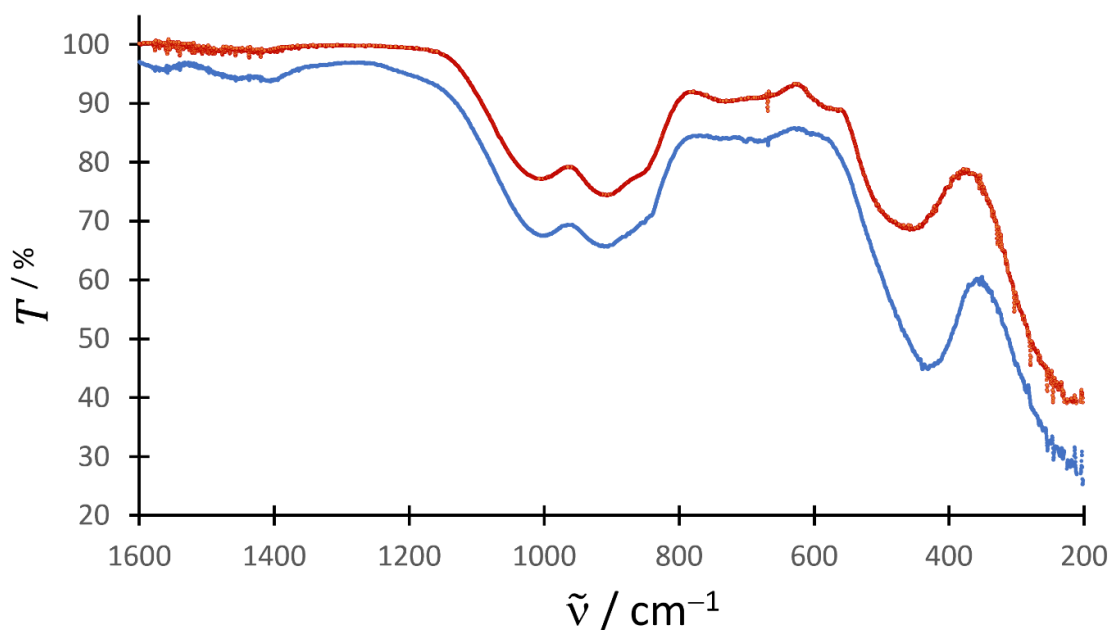
Slika 18. Pretražni elektronski mikroskop.

4. REZULTATI

4.1. Sastav Fuji IX, Equia Forte HT i eksperimentalnih bioaktivnih stakala BAG i BAG-F

4.1.1. FTIR spektroskopija

FTIR spektroskopija dodatno je provedena za eksperimentalna stakla BAG i BAG-F.



Slika 19. Preklopljeni IR(ATR) spektri uzoraka BAG (crveno) i BAG-F (plavo) u području valnih brojeva 1600 – 200 cm^{-1} (x-os). y-os prikazuje transmitanciju, odnosno postotak infracrvenog zračenja koje prolazi kroz uzorak. U oba spektra vidljive su karakteristične apsorpcijske vrpce silikatne i fluorosilikatne strukture.

ATR-FTIR spektri uzoraka BAG i BAG-F na slici 19 pokazuju karakteristična vibracijska svojstva amorfnih silikatnih i fluorosilikatnih materijala. Oba spektra pokazuju snažnu, široku apsorpcijsku vrpcu centriranu oko 1070 – 1080 cm^{-1} , koja se pripisuje asimetričnoj vibraciji istezanja Si-O-Si veza unutar silikatne mreže (138).

U usporedbi s uzorkom BAG, uzorak BAG-F pokazuje blagi pomak ove glavne vrpce prema nižim valnim brojevima i smanjenje njezinog relativnog intenziteta, što sugerira manje varijacije u povezanosti mreže ili u lokalnom kemijskom okruženju silikatne

strukture. Područje niskih valnih brojeva (ispod 800 cm^{-1}) također pokazuje male razlike u obliku vrpce, uključujući širu značajku između 700 i 750 cm^{-1} , što može odražavati suptilne strukturne ili kompozicijske učinke.

Oba spektra pokazuju slabu, široku apsorpciju u području $2800 - 3000\text{ cm}^{-1}$, koja se pripisuje površinskim hidroksilnim skupinama ili tragovima adsorbiranih organskih vrsta, te vibraciju savijanja blizu 460 cm^{-1} koja odgovara Si-O-Si deformacijskim modovima. Odsutnost oštih vrhova u cijelom spektralnom rasponu ukazuje na to da su oba uzorka amorfni staklasti prahovi (139).

Sveukupno, spektri BAG-a i BAG-F-a su kvalitativno slični, s manjim pomacima i razlikama u intenzitetu, što implicira usporedive silikatne okvire s malim varijacijama u lokalnom vezanju i organizaciji mreže.

4.1.2. ICP-MS analiza

Masena spektrometrija s induktivno spregnutom plazmom otkrila je sastav praškastih komponenti ispitivanih materijala. ICP-MS može analizirati sve elemente nominalno prisutne u ispitivanim materijalima osim fluora. Prema proizvođaču, sastav praškaste komponente Fuji IX je 90 – 100% fluoro-aluminosilikatno staklo, 5 – 10% poliakrilna kiselina, a Equia Forte HT Fil 95% stroncijevu fluoro-aluminosilikatno staklo, 5 % poliakrilna kiselina. Nominalni sastav BAG-F (106): 42,7 mol% SiO_2 , 26,2 mol% CaO , 26,1 mol% Na_2O , 4,0 mol% P_2O_5 i 1 mol% CaF_2 ; a BAG (100): 80 wt% BAG Bioglass 45S5 s 20 wt% ZnO .

Rezultati ICP-MS analize prikazani su u tablici 2.

Tablica 2. Sastav eksperimentalnih BAG i BAG-F te praškastih komponenti Fuji IX i Equia dobivenih ICP-MS analizom, izražen kao maseni udio spojeva (w / %).

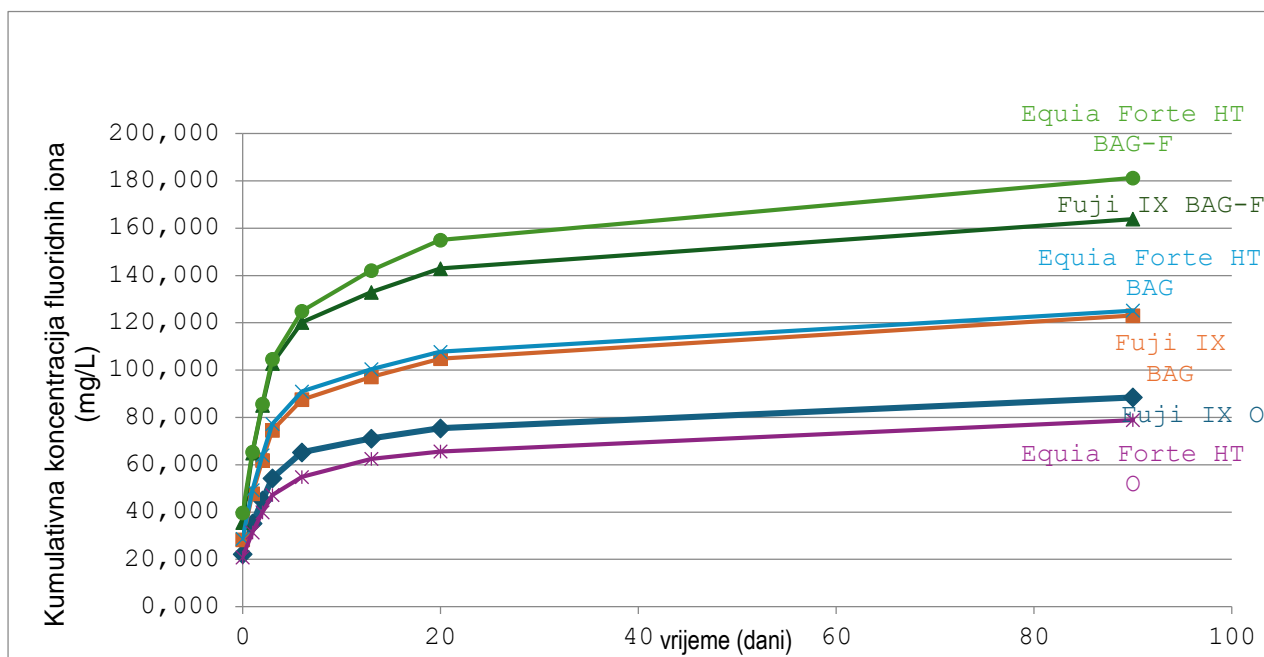
Materijal	BAG	BAG-F	Fuji IX	Equia
Sastav	w / %	w / %	w / %	w / %
SiO ₂	44,30	44,79	44,66	44,72
CaO	26,40	23,46	0,39	0,71
Na ₂ O	24,00	24,20	3,31	4,50
P ₂ O ₅	3,90	2,50	2,11	2,10
SrO	0,40	1,01	35,99	31,26
Al ₂ O ₃	-	0,79	10,27	13,51
ZnO	0,24	1,32	0,003	-
<i>ukupno:</i>	99,24	98,07	96,73	96,80

Nizak postotak koji se nije mogao identificirati pomoću ICP-MS stoga se može pripisati fluoridnoj soli, uglavnom CaF₂, koja je nominalno prisutna u svim testiranim materijalima.

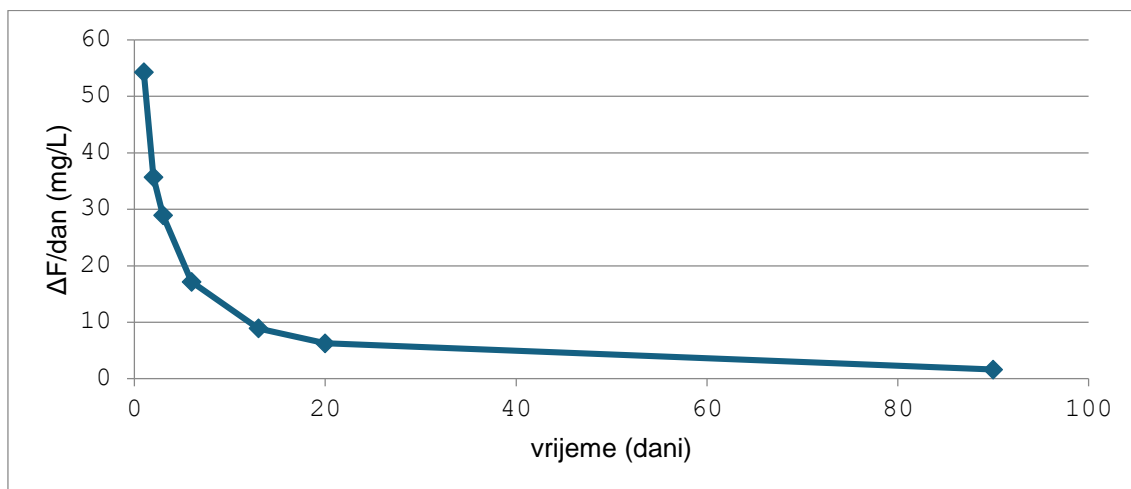
4.2. Otpuštanje fluoridnih iona

4.2.1. Otpuštanje fluoridnih iona iz komercijalnih i modificiranih uzoraka do iscrpljivanja

Postojale su statistički značajne razlike između sljedećih mjerenja u cjelini ($p < 0,001$). Te su razlike značajno ovisile o modifikaciji ($p < 0,001$) i materijalu ($p < 0,001$). Također, učinak modifikacije BAG-ovima bio je različit za različite materijale ($p < 0,001$). U svim vremenskim točkama i za oba materijala, tip BAG-F imao je više vrijednosti od BAG-a, dok su najniže vrijednosti zabilježene za originalne materijale Fuji i Equia. Ovaj učinak modifikacije s BAG-om i BAG-F na povećano oslobađanje F bio je izraženiji kod Equie nego kod Fujija: iako je Equia oslobađala najmanje F, Equia BAG-F je oslobađao najviše F. Deskriptivna statistika dnevnog i kumulativnog otpuštanja fluorida prikazana je u tablicama 3 i 4. Slike 20-22 grafički prikazuju otpuštanje fluorida po skupinama tijekom tromjesečnog razdoblja.



Slika 20. Grafički prikaz prosječnih kumulativnih koncentracija otpuštenih fluoridnih iona po skupinama u svakoj vremenskoj točki. Na x-osi prikazano je vrijeme (dani), a na y-osi aritmetička sredina kumulativnih koncentracija fluoridnih iona (mg/L).



Slika 21. Grafički prikaz prosječne koncentracije ukupno otpuštenih fluorida po danu iz svih materijala zajedno. Vrijeme (dani) prikazano je na x-osi, a na y-osi količnik prosječne koncentracije otpuštenih iona fluora (mg/L) i broja dana do kada je to otpuštanje nastalo. Svaka vremenska točka prikazuje prosječnu koncentraciju ukupno otpuštenih fluoridnih iona u prethodnom razdoblju po danu.

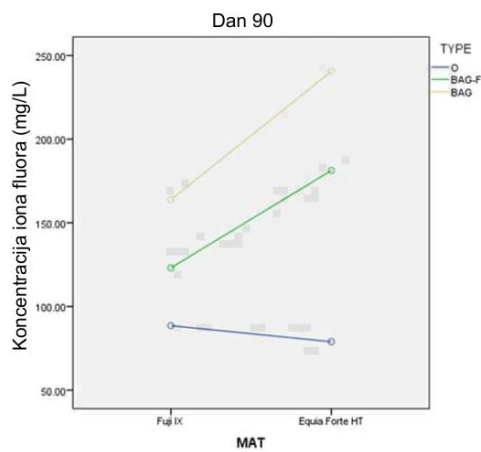
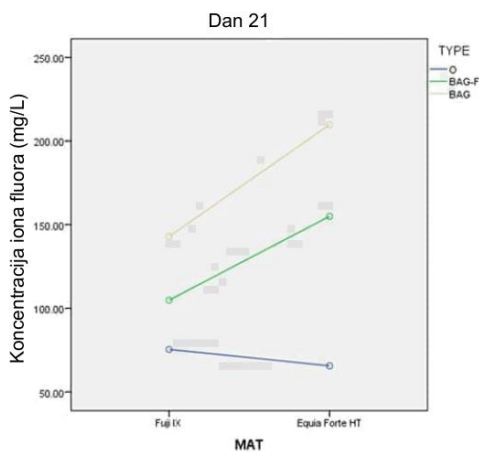
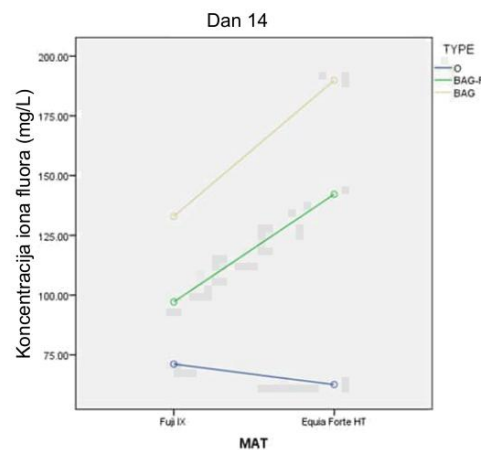
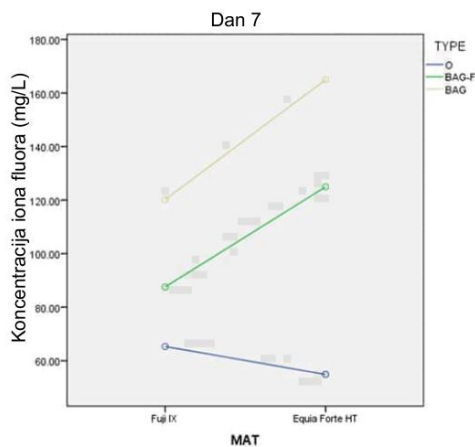
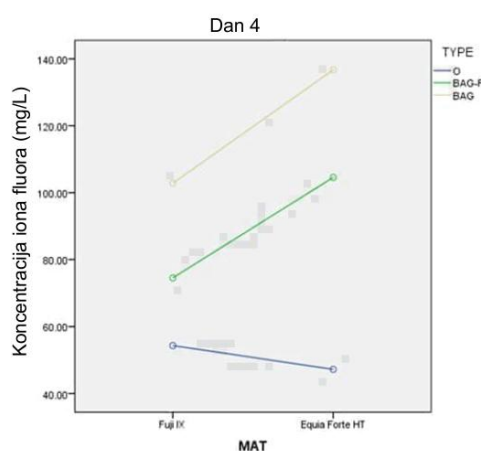
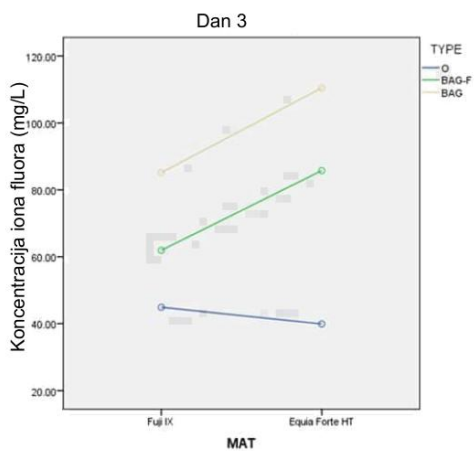
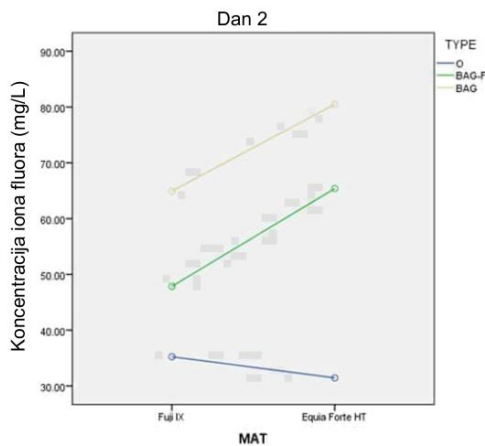
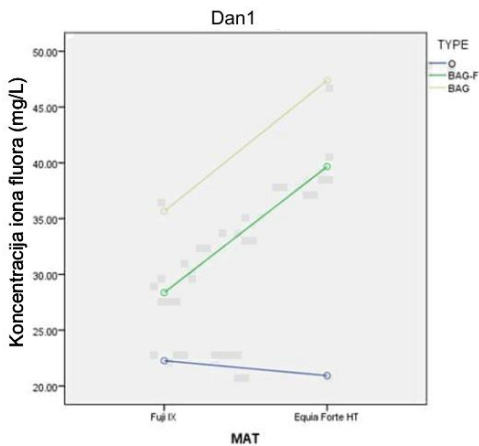
Dok je na slici 20 prikazana suma koncentracija svih otpuštenih fluoridnih iona do trenutka mjerenja, slika 21 prikazuje početnu visoku koncentraciju otpuštenih iona fluora u prvim danima nakon miješanja materijala, nakon čega dolazi do naglog opadanja koncentracije. Slijedi dugotrajno otpuštanje niskih koncentracija fluorida, odnosno iscrpljivanje materijala.

Tablica 3. Deskriptivna statistika dnevnog oslobađanja fluoridnih iona iz Fuji IX i Equia Forte HT materijala i njihovih modifikacija eksperimentalnim BAG-ovima koji sadrže spojeve fluora i cinka. Srednje vrijednosti i standardne devijacije osam mjerenja provedenih u tri ponavljanja 1, 2, 3, 4, 7, 14, 21 i 91 dana nakon miješanja. Vrijednosti koncentracije izražene su u mg/L.

Materijal	Modifikacija	Dani nakon miješanja	D1	D2	D3	D4	D7	D14	D21	D91
Fuji IX	O	Medijan	22,259	12,975	9,666	9,426	11,000	5,797	4,323	13,073
		Std. devijacija	3,868	2,622	1,838	2,315	2,979	1,971	1,248	2,436
	BAG	Medijan	28,368	19,486	14,070	12,635	13,000	9,578	7,767	18,175
		Std. devijacija	4,251	4,081	3,354	2,721	2,540	2,537	1,992	2,101
	BAG-F	Medijan	35,658	29,278	20,200	17,703	17,376	12,714	10,051	20,883
		Std. devijacija	2,443	2,518	1,474	1,401	1,252	0,952	0,762	1,276
Equia Forte HT	O	Medijan	20,923	10,525	8,484	7,281	7,667	7,667	3,103	13,258
		Std. devijacija	1,932	1,633	1,393	0,820	0,986	0,986	0,795	1,646
	BAG	Medijan	39,665	25,735	20,348	18,828	20,383	17,223	12,824	26,270
		Std. devijacija	10,717	9,435	8,760	7,708	7,559	8,518	7,105	6,720
	BAG-F	Medijan	47,393	33,101	29,962	26,270	28,244	24,880	19,890	30,748
		Std. devijacija	9,395	9,365	8,347	7,410	7,034	9,796	8,845	6,537

Tablica 4. Deskriptivna statistika kumulativnog oslobađanja fluoridnih iona iz Fuji IX i Equia Forte HT materijala i njihovih modifikacija s eksperimentalnim BAG-ovima koji sadrže spojeve fluora i cinka. Srednje vrijednosti i standardne devijacije osam mjerenja provedenih u tri ponavljanja 1., 2., 3., 4., 7., 14., 21. i 91. dana nakon miješanja. Vrijednosti koncentracije izražene su u mg/L.

Materijal	Modifikacija	Dani nakon miješanja	c1	c2	c3	c4	c7	c14	c21	c91
Fuji IX	O	Medijan	22,259	35,234	44,901	54,326	65,326	71,123	75,445	88,519
		Std. devijacija	3,868	6,434	8,256	10,422	12,917	14,282	15,263	16,622
	BAG	Medijan	28,368	47,854	61,924	74,559	87,559	97,137	104,904	123,079
		Std. devijacija	4,251	8,230	11,481	13,967	16,377	18,781	20,616	22,248
	BAG-F	Medijan	35,658	64,936	85,136	102,839	120,215	132,929	142,980	163,863
		Std. devijacija	2,443	4,647	5,899	7,005	7,788	8,249	8,494	9,219
Equia Forte HT	O	Medijan	20,923	31,449	39,933	47,213	54,880	62,546	65,650	78,907
		Std. devijacija	1,932	3,080	4,299	4,938	5,810	6,714	7,234	8,523
	BAG	Medijan	39,665	65,400	85,748	104,576	124,958	142,181	155,005	181,275
		Std. devijacija	10,717	20,029	27,038	33,917	40,822	48,551	55,398	61,495
	BAG-F	Medijan	47,393	80,493	110,455	136,725	164,969	189,849	209,739	240,488
		Std. devijacija	9,395	18,586	26,685	31,338	37,489	44,601	51,232	56,815



Slika 22. Usporedni grafički prikaz kumulativne koncentracije (mg/L) otpuštenih iona fluora (y-os) po skupinama u ovisnosti o vrsti materijala (x-os). Svaki graf prikazuje vrijednosti izmjerene u određenom razdoblju mjerenja: 1., 2., 3., 4., 7., 14., 21. i 90. dan nakon miješanja.

4.2.2. Otpuštanje fluoridnih iona iz komercijalnih i modificiranih uzoraka nakon ponovnog punjenja fluoridima

Kako bi se procijenio učinak ponovnog punjenja fluoridima (eng. *recharge*), provedena je usporedba oslobađanja fluorida po danu u svim skupinama i vremenskim točkama. Iako su nakon ponovnog punjenja dnevne razine oslobađanja fluorida bile niže od početnih vrijednosti, čini se da su i sporije padale. Srednje vrijednosti i standardne devijacije za sve vrijednosti prikazane su u tablici 5 i na slici 23. Kumulativne vrijednosti prikazane su u tablici 6 i na slici 24. Slika 25 prikazuje prosječnu dnevnu količinu otpuštanja, dobivenu dijeljenjem ukupnih vrijednosti s brojem dana između mjerenja, čime se omogućuje bolja usporedba kinetike otpuštanja fluorida prije i nakon ponovnog punjenja.

Uspoređivanjem vrijednosti u susjednim skupinama prije i nakon ponovnog punjenja (1 dan nakon miješanja s 1 dan nakon ponovnog punjenja, 2 dana nakon miješanja na 2 dana nakon ponovnog punjenja itd.) za skupine s Fuji IX materijalom, razlike su bile statistički značajne ($p < 0,001$) za sve vremenske točke, s početnim vrijednostima višim nakon 1, 2, 3, 4 i 7 dana, a vrijednostima nakon ponovnog punjenja višim nakon 14 i 21 dana. Rezultati su bili slični za skupinu Equia Forte HT. Početne vrijednosti F bile su značajno više nakon 1., 2., 3. i 4. dana ($p < 0,001$), nakon 7 dana vrijednosti su bile usporedive ($p > 0,05$), a nakon 14 i 21 dana vrijednosti nakon ponovnog punjenja bile su značajno više ($p < 0,001$). Za E BAG obrazac se činio sličnim, ali razlike nakon 14 i 21 dan nisu bile statistički značajne ($p > 0,05$), a za E BAG-F vrijednosti prije ponovnog punjenja bile su značajno više nakon 1, 2, 3, 4 i 7 dana ($p < 0,001$), razlika nije bila značajna nakon 14 dana, a bila je značajno veća nakon ponovnog punjenja 21. dana ($p = 0,017$).

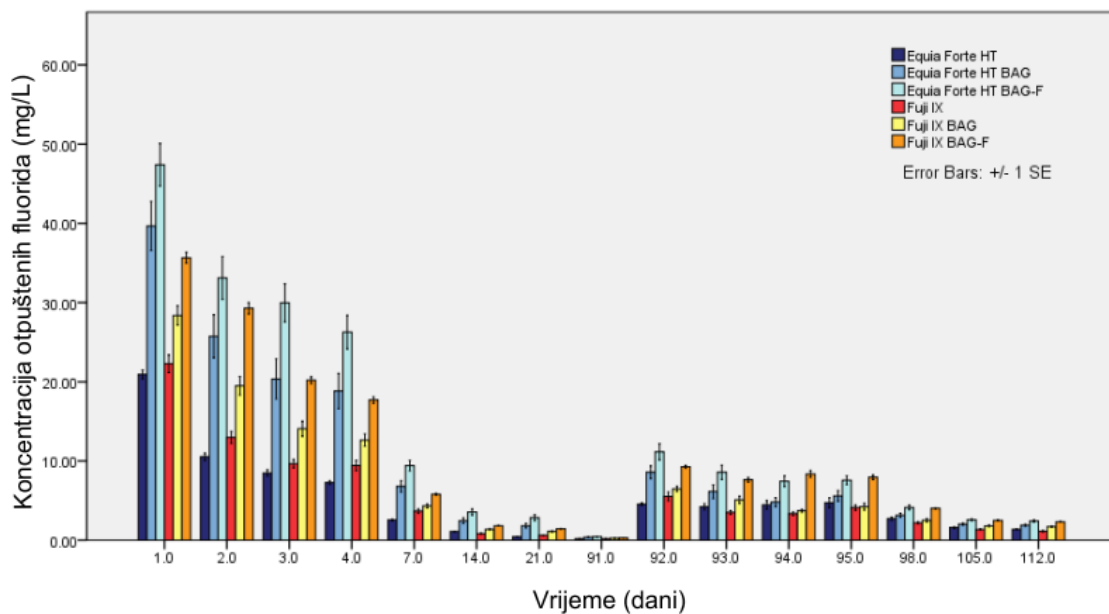
Povećanje oslobađanja fluorida za BAG i varijantu BAG-F u usporedbi s originalnom formulacijom bilo je statistički značajno u oba materijala, ali povećanje za BAG bilo je manje ($BAG-F > BAG > original$), iako također značajno ($p < 0,001$). To vrijedi za sve vremenske točke, prije i poslije ponovnog punjenja fluoridima.

Tablica 5. Deskriptivna statistika dnevnog oslobađanja fluoridnih iona iz Fuji IX i Equia Forte HT materijala i njihovih modifikacija eksperimentalnim BAG-ovima koji sadrže spojeve fluora i cinka. Srednje vrijednosti i standardne devijacije sedam mjerenja provedenih u tri ponavljanja 1, 2, 3, 4, 7, 14 i 21 dan nakon ponovnog punjenja. Vrijednosti koncentracije izražene su u mg/L.

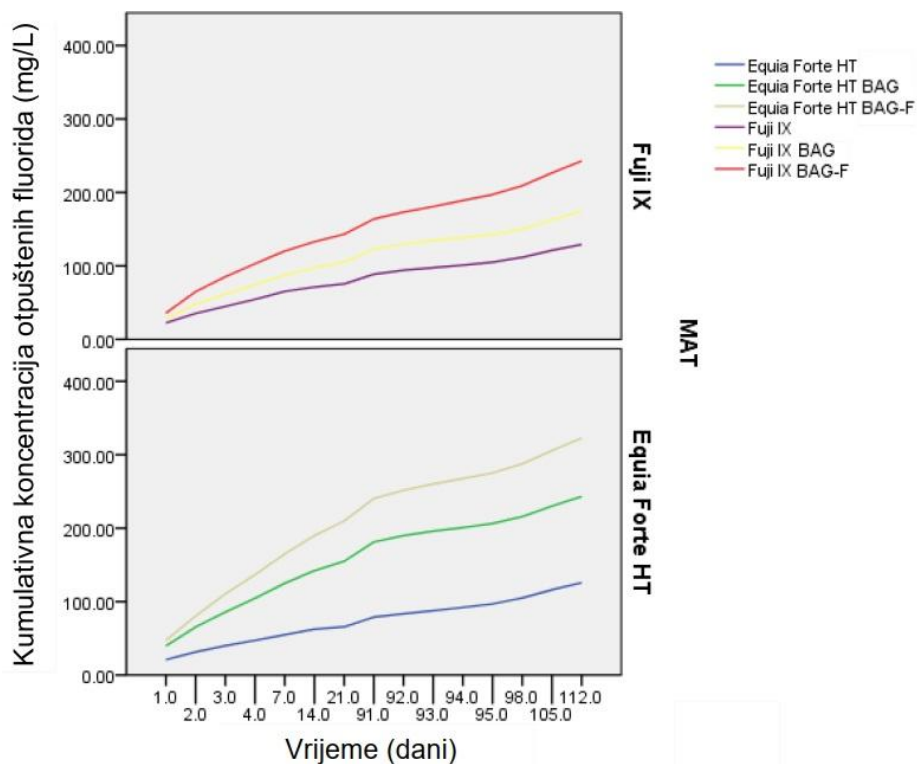
Materijal	Modifikacija	Dani nakon miješanja	D1	D2	D3	D4	D7	D14	D21
Fuji IX	O	Medijan	5,52	3,50	3,34	4,11	6,58	9,53	7,93
		Std. devijacija	1,99	0,80	0,85	1,17	1,34	2,10	2,33
	BAG	Medijan	6,46	5,09	3,72	4,22	7,54	12,62	12,06
		Std. devijacija	1,15	1,62	0,73	1,50	2,12	2,56	2,05
	BAG-F	Medijan	9,27	7,63	8,36	7,95	12,04	17,53	16,24
		Std. devijacija	0,64	0,98	1,53	0,98	0,68	0,64	1,00
Equia Forte HT	O	Medijan	4,55	4,22	4,46	4,73	8,16	11,12	9,61
		Std. devijacija	,65	1,36	1,88	2,18	2,15	2,54	1,66
	BAG	Medijan	8,58	6,13	4,80	5,59	9,44	14,21	13,17
		Std. devijacija	2,81	2,99	1,94	2,33	2,63	3,35	3,54
	BAG-F	Medijan	11,16	8,57	7,45	7,57	12,39	18,05	16,94
		Std. devijacija	3,55	3,15	2,35	1,96	3,01	3,08	3,40

Tablica 6. Deskriptivna statistika kumulativnog oslobađanja fluoridnih iona iz Fuji IX i Equia Forte HT materijala i njihovih modifikacija eksperimentalnim BAG-ovima koji sadrže spojeve fluora i cinka. Srednje vrijednosti i standardne devijacije sedam mjerenja provedenih u tri ponavljanja 1, 2, 3, 4, 7, 14 i 21 dan nakon ponovnog punjenja. Vrijednosti koncentracije izražene su u mg/L.

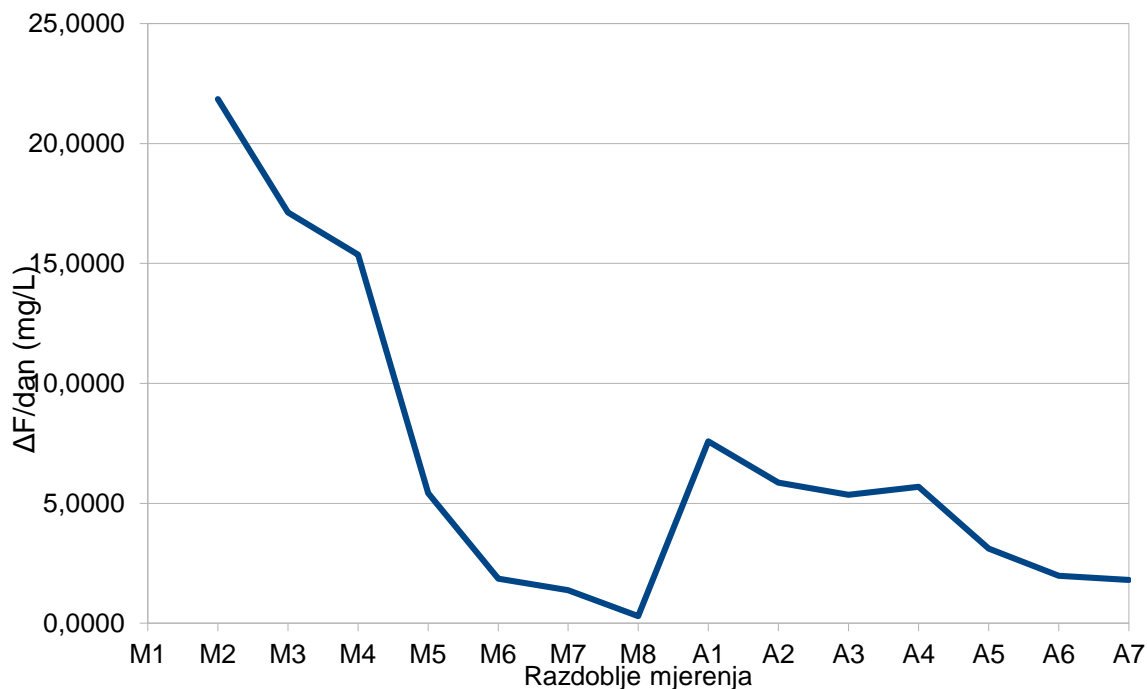
Materijal	Modifikacija	Dani nakon miješanja	c1	c2	c3	c4	c7	c14	c21
Fuji IX	O	Medijan	94,06	97,56	100,90	105,02	111,60	121,13	129,06
		Std. devijacija	17,71	18,42	18,92	19,82	20,93	22,50	24,52
	BAG	Medijan	129,54	134,63	138,35	142,57	150,11	162,73	174,79
		Std. devijacija	23,30	24,67	25,08	26,38	28,36	30,85	32,79
	BAG-F	Medijan	173,13	180,76	189,12	197,07	209,10	226,63	242,87
		Std. devijacija	9,56	9,95	10,48	10,44	10,49	10,32	10,38
Equia Forte HT	O	Medijan	83,46	87,68	92,14	96,87	105,02	116,14	125,75
		Std. devijacija	9,04	9,50	9,87	10,81	11,92	13,88	15,23
	BAG	Medijan	189,85	195,98	200,79	206,38	215,82	230,04	243,20
		Std. devijacija	64,13	66,87	68,40	70,51	72,46	75,05	77,85
	BAG-F	Medijan	251,64	260,22	267,66	275,23	287,62	305,67	322,60
		Std. devijacija	59,78	62,59	64,82	66,55	69,39	72,18	75,39



Slika 23. Grafički prikaz dnevnog otpuštanja fluoridnih iona iz Equia Forte HT i Fuji IX te njihove modifikacije eksperimentalnim BAG-ovima. Ponovno punjenje Fluor Protector gelom provedeno je nakon mjerenja 91. dana. Ponovno otpuštanje zabilježeno je 1, 2, 3, 4, 7, 14 i 21 dan nakon ponovnog punjenja. Koncentracija iona fluora izražena u mg/L prikazana je na y-osi, dok x-os označava vrijeme.



Slika 24. Grafički prikaz prosječne kumulativne koncentracije (mg/L) oslobođenih fluoridnih iona (y-os) iz Equia Forte HT i Fuji IX te njihove modifikacije s 5% masenog udjela BAG-a i BAG-F-a tijekom razdoblja od 112 dana (x-os). Ponovno punjenje Fluor Protector gelom provedeno je nakon mjerenja 91. dana.



Slika 25. Grafički prikaz prosječnih koncentracija (mg/L) ukupno otpuštenih fluoridnih iona po danu iz svih materijala zajedno (y-os) izmjerenih u 15 vremenskih točki (x-os). Slovom M na označeno je prvih 8 mjerenja, nakon čega je provedena fluoridacija uzoraka. Mjerenja nakon ponovnog punjenja fluoridima označena su slovom A.

4.3. Otpuštanje kalcijevih iona

4.3.1. Otpuštanje kalcijevih iona iz komercijalnih i modificiranih materijala u neutralnom i kiselom mediju

Geometrijska sredina otpuštenih iona kalcija po danima mjerenja prikazana je u tablici 7, dok je kumulativna vrijednost prikazana u tablici 8. Analiza varijance (ANOVA) pokazala je statistički značajne razlike između skupina ($p < 0,001$) i u različitim vremenskim točkama ($p < 0,001$) u pogledu oslobađanja kalcijevih iona. LSD test pokazao je da su sve Fuji skupine oslobađale značajno više ($p < 0,05$) kalcija od svih Equia skupina, neovisno o modifikaciji i mediju pohrane (deionizirana voda ili otopina mliječne kiseline). Kako grafički prikazuju slike 26-28, najviše iona kalcija otpušteno je iz uzoraka

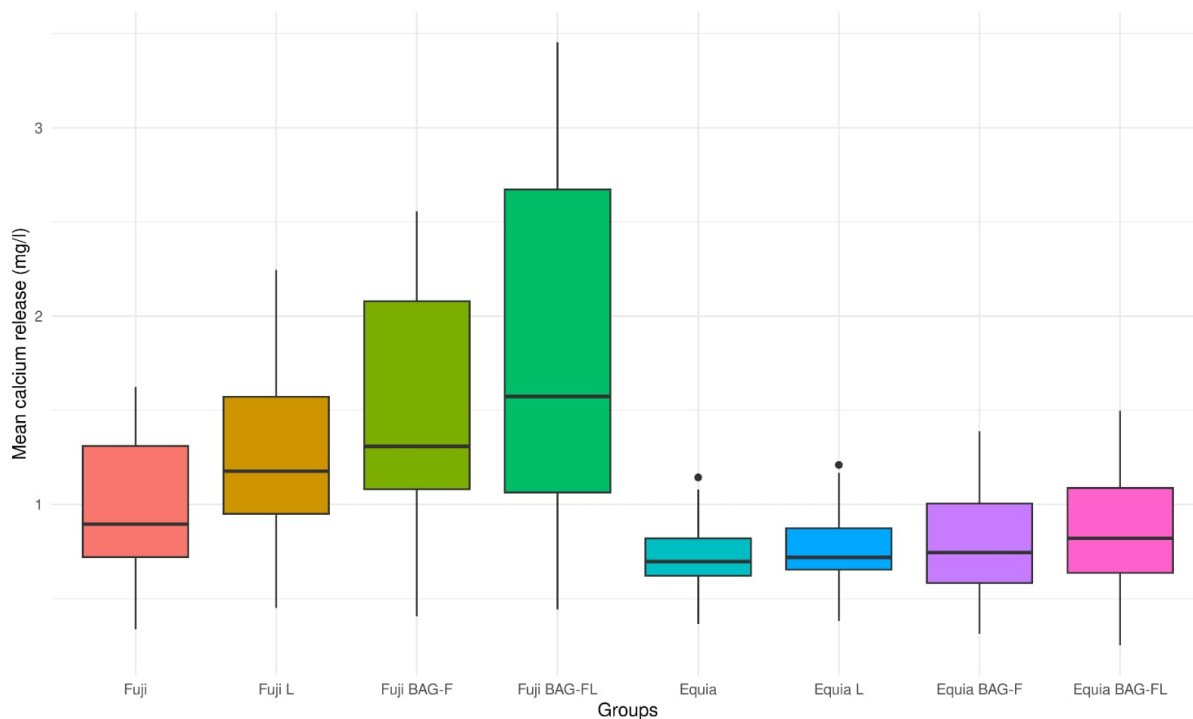
F BAG-F L, a slijede F BAG-F, F L, F, E BAG-F L, E BAG-F, E L i E. Razlike su bile značajne između svih Fuji IX skupina ($p < 0,05$): Fuji je oslobađao kalcijeve ione u najnižoj koncentraciji, a slijede Fuji L, Fuji BAG-F i Fuji BAG-FL. Trend je bio sličan u Equia skupinama, ali razlike su bile značajne između E vs. E BAG-F, E vs. E BAG-F L i E L vs. E BAG-F L.

Tablica 7. Deskriptivna statistika dnevnog oslobađanja kalcijevih iona izražena u mg/L iz Fuji IX i Equia Forte HT te njihovih modifikacija s 5 % masenog udjela BAG-F u deioniziranoj vodi i mliječnoj kiselini (L) 1, 4, 7, 14 i 21 dan nakon miješanja.

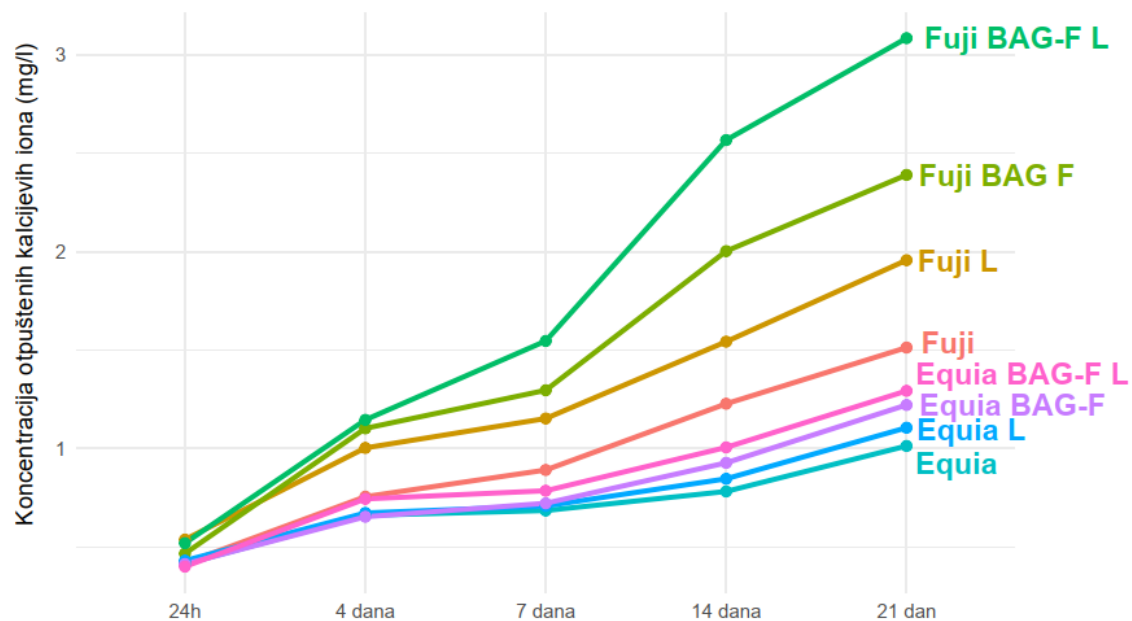
Materijal			Dan 1	Dan 4	Dan 7	Dan 14	Dan 21	
	Modifikacija							
Fuji IX	Fuji	Medijan	0,4183	0,338	0,1355	0,3364	0,2855	
		Std. devijacija	0,0556	0,0285	0,0204	0,0513	0,0271	
	Fuji L	Medijan	0,5383	0,4656	0,1494	0,3902	0,4139	
		Std. devijacija	0,0772	0,0693	0,0204	0,0424	0,0688	
	Fuji BAG-F	Medijan	0,4674	0,6358	0,1935	0,7066	0,3870	
		Std. devijacija	0,0452	0,0554	0,0330	0,0663	0,0515	
	F BAG-FL	Medijan	0,5202	0,6261	0,4008	1,0200	0,5177	
		Std. devijacija	0,0616	0,0943	0,0805	0,0533	0,0754	
	Equia	E	Medijan	0,4146	0,2469	0,0244	0,0970	0,2310
			Std. devijacija	0,0437	0,0311	0,0074	0,0072	0,0215
		EL	Medijan	0,4316	0,2421	0,0354	0,1380	0,2594
			Std. devijacija	0,0378	0,0176	0,0075	0,0175	0,0245
E BAG-F		Medijan	0,4141	0,2402	0,0683	0,2054	0,2939	
		Std. devijacija	0,0747	0,0319	0,0164	0,0170	0,0403	
E BAG-FL		Medijan	0,4010	0,3440	0,0414	0,2202	0,2871	
		Std. devijacija	0,0784	0,0528	0,0079	0,0254	0,0241	

Tablica 8. Deskriptivna statistika kumulativnog oslobađanja kalcijevih iona izražena u mg/L iz Fuji IX i Equia Forte HT (E) i njihovih modifikacija s 5 % masenog udjela BAG-F u deioniziranoj vodi i mliječnoj kiselini (L) nakon 1, 4, 7, 14 i 21 dan.

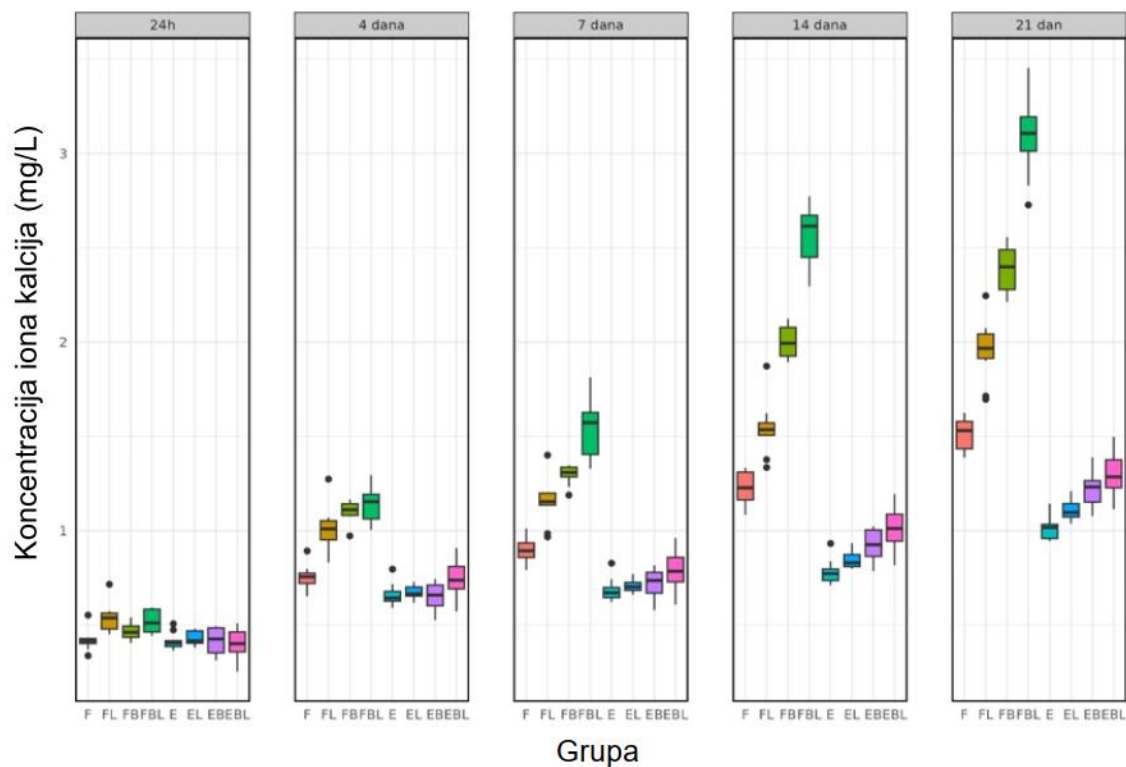
Materijal			Dan 1	Dan 4	Dan 7	Dan 14	Dan 21	
	Modifikacija							
Fuji IX	Fuji	Medijan	0,4183	0,7563	0,8918	1,2282	1,5137	
		Std. devijacija	0,0556	0,0637	0,0673	0,0860	0,0845	
	Fuji L	Medijan	0,5383	1,0039	1,1533	1,5435	1,9574	
		Std. devijacija	0,0772	0,1251	0,1207	0,1454	0,1631	
	Fuji BAG-F	Medijan	0,4674	1,1032	1,2967	2,0033	2,3903	
		Std. devijacija	0,0452	0,0556	0,0519	0,0832	0,1277	
	F BAG-FL	Medijan	0,5202	1,1463	1,5471	2,5671	3,0848	
		Std. devijacija	0,0616	0,1022	0,1637	0,1533	0,2046	
	Equia	E	Medijan	0,4146	0,6615	0,6859	0,7829	1,0139
			Std. devijacija	0,0437	0,0598	0,0619	0,0651	0,0630
		EL	Medijan	0,4316	0,6637	0,7091	0,8471	1,1065
			Std. devijacija	0,0378	0,0366	0,0372	0,0483	0,0565
E BAG-F		Medijan	0,4141	0,6543	0,7227	0,9281	1,2220	
		Std. devijacija	0,0747	0,0728	0,0785	0,0820	0,0975	
E BAG-FL		Medijan	0,4010	0,7450	0,7864	1,0066	1,2936	
		Std. devijacija	0,0784	0,1060	0,1096	0,116	0,1167	



Slika 26. Dijagram pravokutnika koji prikazuje koncentracije (mg/L) oslobođenih kalcijevih iona (y-os) iz Fuji IX (F), Equia (E) i njihovih modifikacija BAG-F-om u deioniziranoj vodi i mliječnoj kiselini (x-os).



Slika 27. Grafički prikaz kumulativnih koncentracija (mg/L) otpuštenih iona kalcija (y-os) između skupina izmjerenih nakon 24h, 4, 7, 14 i 21 dan (x-os).



Slika 28. Dijagrami pravokutika za pojedinačna mjerna razdoblja (24h, 4, 7, 14 i 21 dan) prikazuju koncentracije (mg/L) ukupno otpuštenih iona kalcija (y-osi) po skupinama (x-osi).

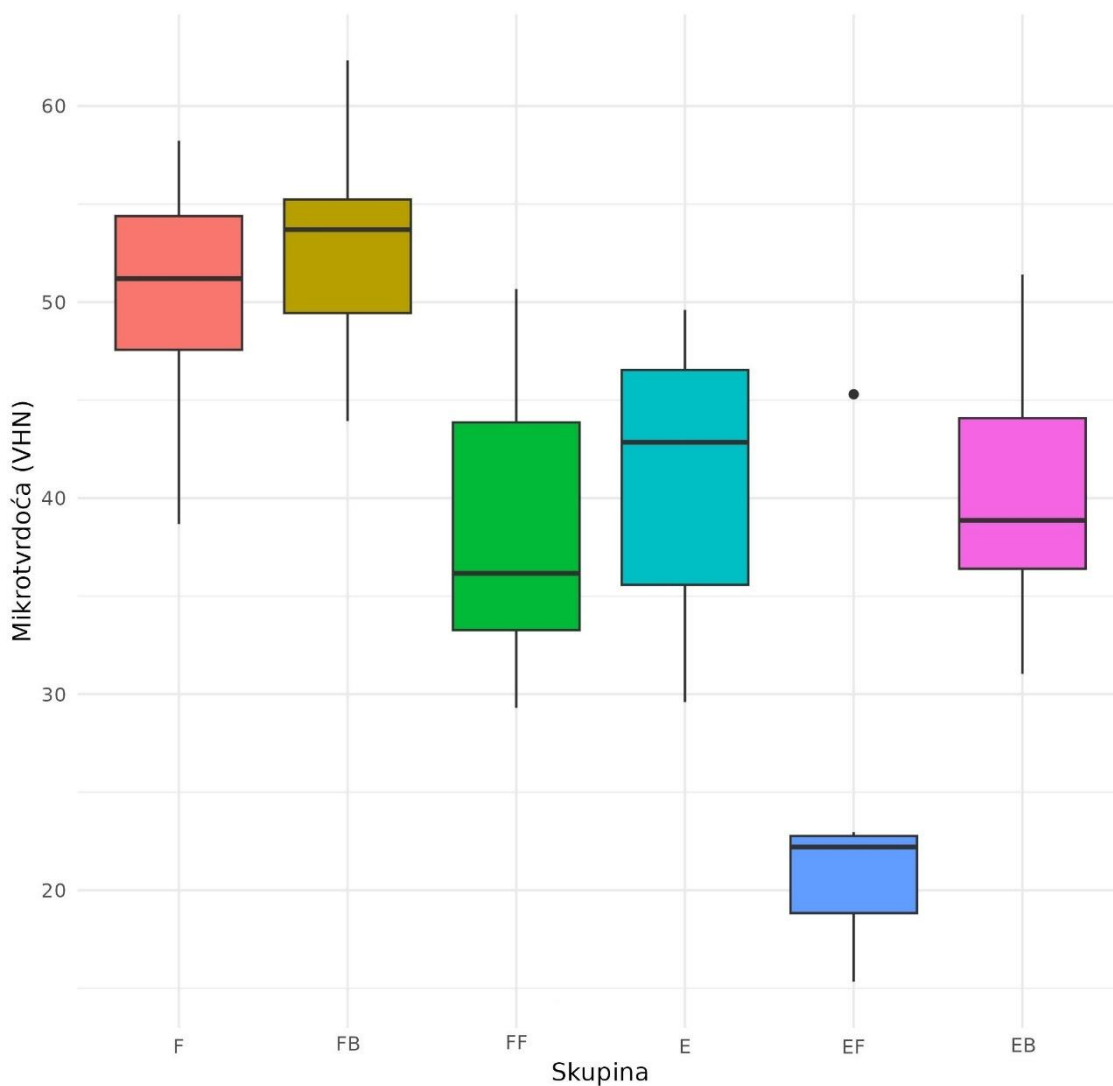
4.4. Mikrotvrdoća

4.4.1. Ispitivanje statistički značajnih razlika između skupina

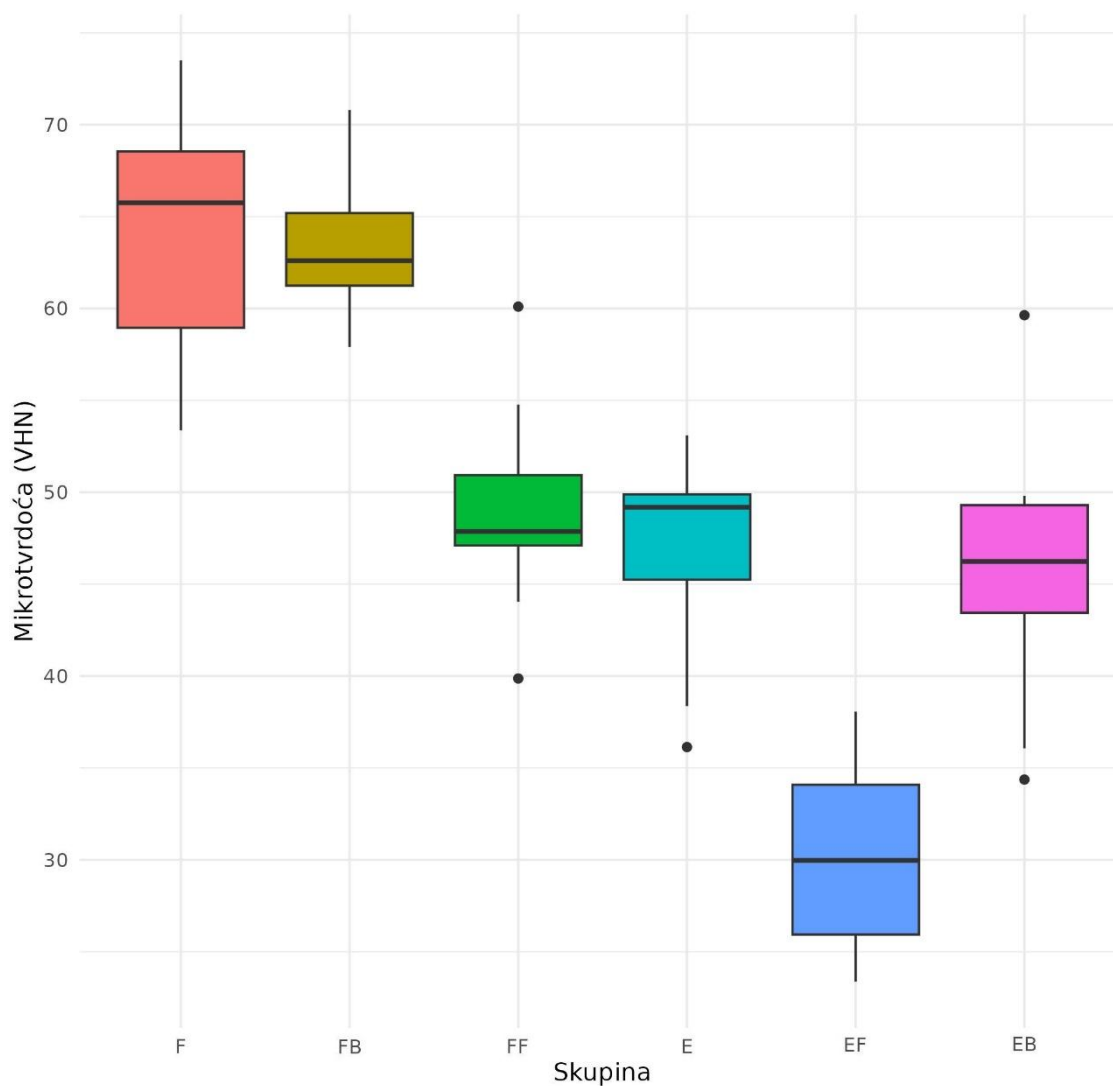
Kako bi se ispitalo postoje li statistički značajne razlike između ispitivanih skupina, provedena je jednofaktorska analiza varijance (ANOVA) za razdoblja od 24 h i 7 dana nakon miješanja. Prije same analize provjerene su pretpostavke testa, i to normalnost distribucije unutar skupina (Shapiro–Wilkov test) te homogenost varijanci (Leveneov test). Za razinu značajnosti $\alpha = 0,05$ utvrđeno je da je normalnost narušena za skupinu EB 24 h nakon miješanja ($p = 0,006729$), dok u mjerenjima nakon 7 dana nije uočeno kršenje pretpostavke normalnosti. Dakle, osim odstupanja u jednoj skupini, pretpostavke ANOVA testa bile su zadovoljene. Budući da je ANOVA djelomično otporna na manja odstupanja od normalnosti, analiza je provedena. Za naknadne usporedbe između skupina

primijenjen je LSD (Least Significant Difference) post-hoc test s Bonferronijevom korekcijom na razini značajnosti 0,05.

ANOVA analiza pokazala je visoku statističku značajnost razlika između skupina 24 sata nakon miješanja ($p < 0,00001$), kao i nakon 7 dana ($p < 0,00001$). Rezultati LSD testa ukazali su na jasan rang mikrotvrdoće između skupina.



Slika 29. Dijagram pravokutnika prikazuje vrijednosti mikrotvrdoće (VHN) nakon 24 h po skupinama .



Slika 30. Dijagram pravokutnika prikazuje vrijednosti mikrotvrdoće nakon 7 dana po skupinama.

Srednje vrijednosti mikrotvrdoće i standardne devijacije za 6 eksperimentalnih skupina nakon 24 sata i nakon sedam dana prikazane su u tablici 9. Statistički značajne razlike određene su LSD testom ($p < 0,00001$). Nakon 24 sata, najveću mikrotvrdoću pokazali su uzorci FB (53,16) i F (50,63), dok je EF skupina imala najniže vrijednosti (23,72), kako je grafički prikazano na slici 29. Nakon 7 dana došlo je do značajnog porasta

mikrotvrdoće u gotovo svim skupinama, s najvišim vrijednostima zabilježenim u skupinama F (64,48) i FB (63,44), dok je EF skupina ostala najslabija (30,20).

Tablica 9. Vrijednosti mikrotvrdoće (VHN) i standardne devijacije za 6 eksperimentalnih skupina.

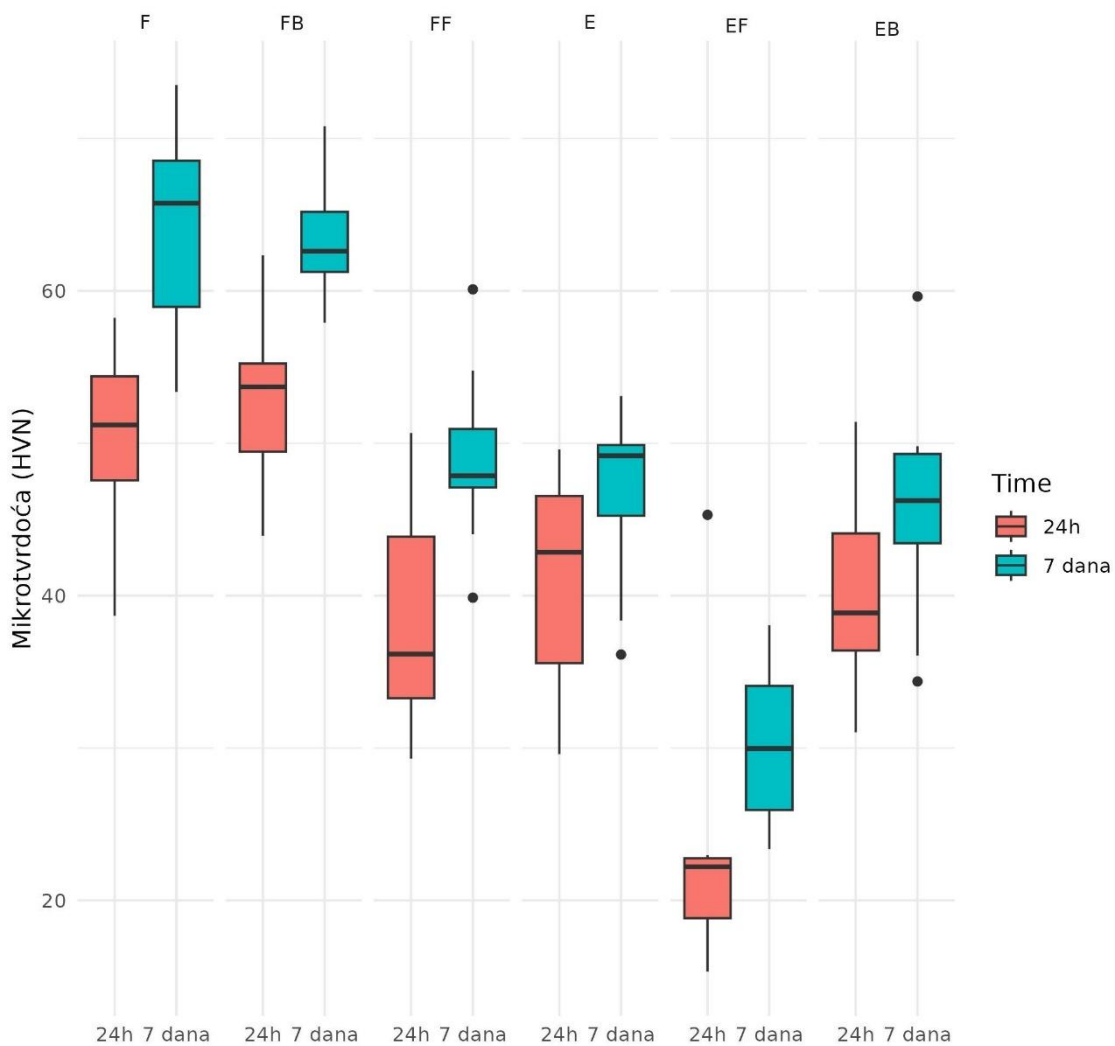
Skupina	Medijan 24 h	Standardna		
		devijacija 24 h	Medijan 7 d	
			Standardna devijacija 7 h	
E	41,2 ^{bc}	6,850	46,833 ^b	5,595
EF	23,72 ^d	10,030	30,205 ^c	6,022
EB	40,547 ^c	6,774	45,896 ^b	7,189
F	50,634 ^{ab}	5,671	64,48 ^a	6,793
FF	38,433 ^c	7,559	49,133 ^b	5,873
FB	53,163 ^a	5,422	63,443 ^a	4,124

*različita slova u nadnaslovima označavaju statistički značajne razlike među skupinama. Nema statistički značajnih razlika između skupina s istim slovom.

4.4.2. Ispitivanje statistički značajnih razlika unutar grupa kroz vrijeme

Kako bi se ispitala razlika između dvaju razdoblja mjerenja, unutar svake od šest skupina, provedeni su upareni t-testovi. Prije same analize provjerena je pretpostavka normalnosti razlika između mjerenja pomoću Shapiro–Wilkovog testa. Na razini značajnosti $\alpha = 0,05$ pretpostavka je bila zadovoljena u svim skupinama osim u skupini EF ($p = 0,02263$). Sukladno tome, upareni t-test korišten je za sve skupine koje zadovoljavaju pretpostavku normalnosti, dok je za skupinu EF primijenjen neparametarski Wilcoxonov test za zavisne uzorke. Uzimajući u obzir vrijednosti mikrotvrdoće unutar iste skupine u vremenskom razmaku od tjedan dana (slika 31), utvrđeno je da su razlike za skupine F, FB, FF i E bile statistički značajne (p -vrijednosti 0,0001871, 0,0005441, 0,0006575, 0,004463) te da je

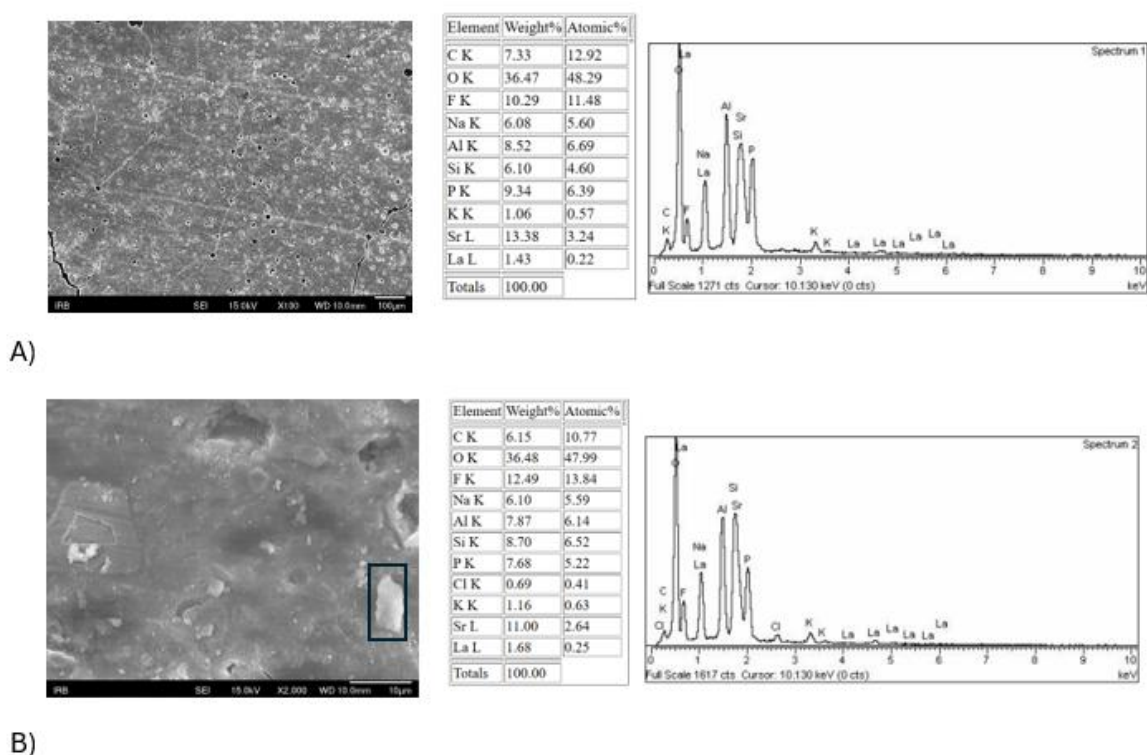
mikrotvrdoća bila veća nakon 7 dana. Za skupine EF i EB, mikrotvrdoća se nije značajno mijenjala tijekom vremena (p-vrijednosti 0,2746 i 0,08398).



Slika 31. Usporedni dijagrami pravokutnika prikazuju vrijednosti mikrotvrdoće (VHN) izmjerene nakon 24 h i 7 dana.

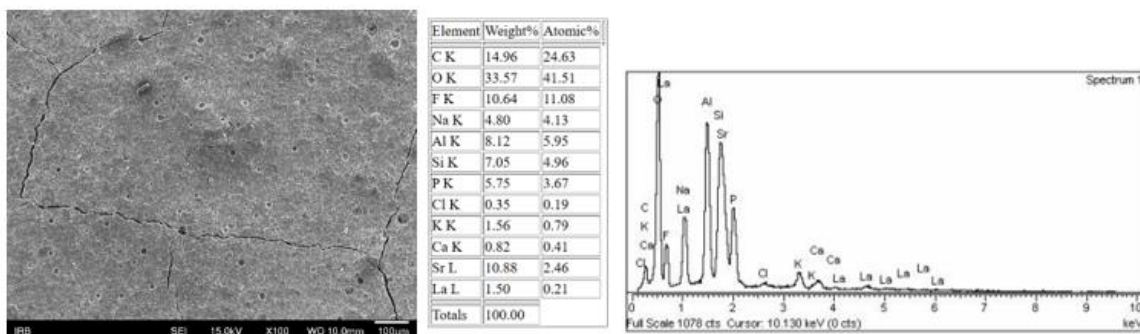
4.5. SEM-EDS analiza

SEM-EDS analiza uzorka Equia pri manjem povećanju općenito je odgovarala deklariranom sastavu Equia fluoro-aluminosilikatnog stakla gdje je kalcij zamijenjen stroncijem (slika 32A). Površinski defekti odgovaraju mjestima gdje je voda isparavala tijekom postupka sušenja u vakuumu. Analiza pri većem povećanju pokazala je da amorfne strukture na površini imaju sličan sastav kao i cijeli uzorak, što sugerira da se radi o zdrobljenim česticama uzorka (slika 32B).

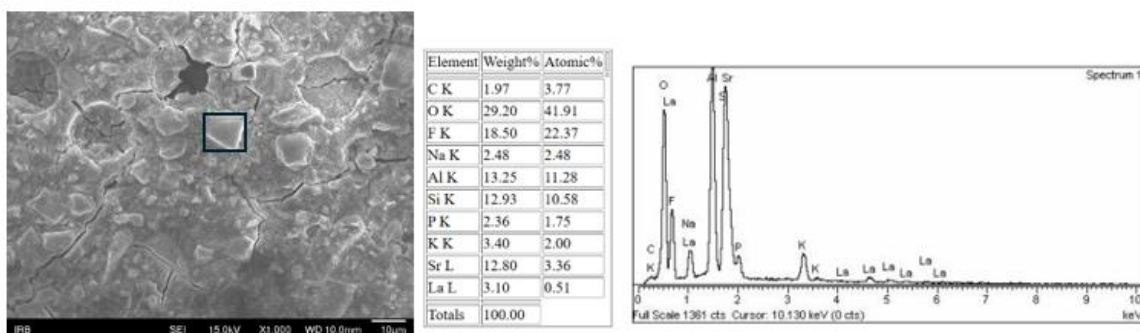


Slika 32. SEM-EDS analiza uzorka Equia pri povećanju od 100x pokazuje stroncij-aluminosilikatni sastav (A). SEM-EDS analiza površinskih oblika pri povećanju od 2000x pokazala je sličan sastav kao i cijeli uzorak (B).

SEM-EDS analiza uzorka Equia+BAG pokazala je vidljive pukotine i površinske nedostatke kao rezultat isparavanja inherentne vode, ali je u sastavu uočen i kalcij (slika 33A). Pri povećanju od 1000x čestice koje odgovaraju stroncij-fluoro-aluminosilikatnom staklu, tj. punilu staklenog hibridnog materijala Equia, mogu se vidjeti blizu površine uzorka, ali ne i na površini (slika 33B).



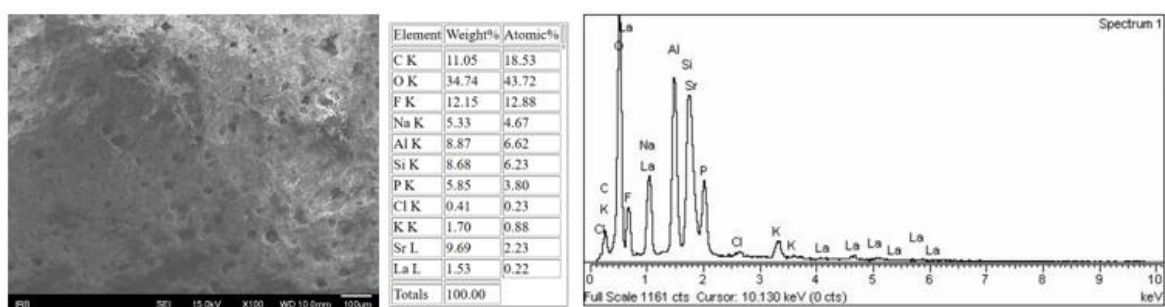
(A)



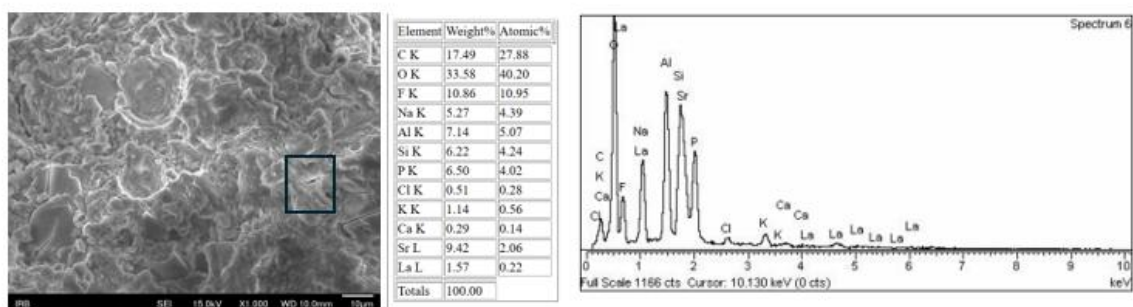
(B)

Slika 33. SEM-EDS analiza uzorka Equia+BAG pokazala je vidljive pukotine i površinske nedostatke kao rezultat isparavanja inherentne vode. Kalcij je identificiran u Equia+BAG uzorku zbog modifikacije BAG-om (A). Pri povećanju od 1000x čestice stroncij-fluoro-aluminosilikatnog stakla identificirane su blizu površine (B).

Equia+BAF-F uzorci pokazali su glatku površinu i sadržaj sličan originalnoj formulaciji, ali s nešto višim masenim udjelom fluorida (slika 34A). Niski maseni udjeli kalcija također su otkriveni kao sastavni dio uzorka cementa, što vjerojatno odgovara česticama podrijetlom iz BAG-F-a (slika 34B).



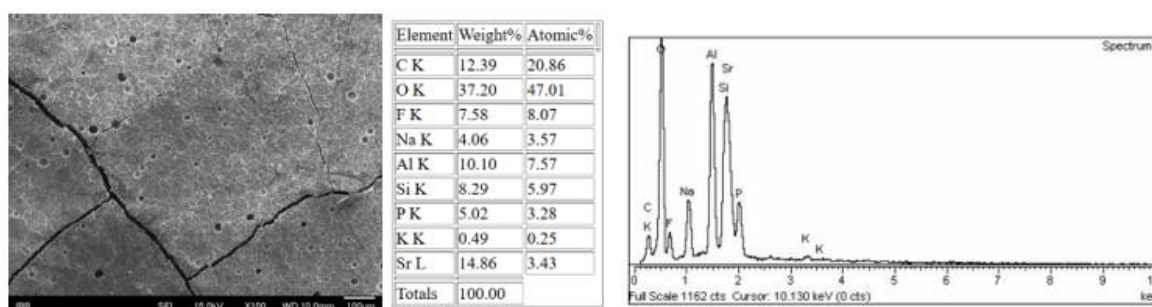
(A)



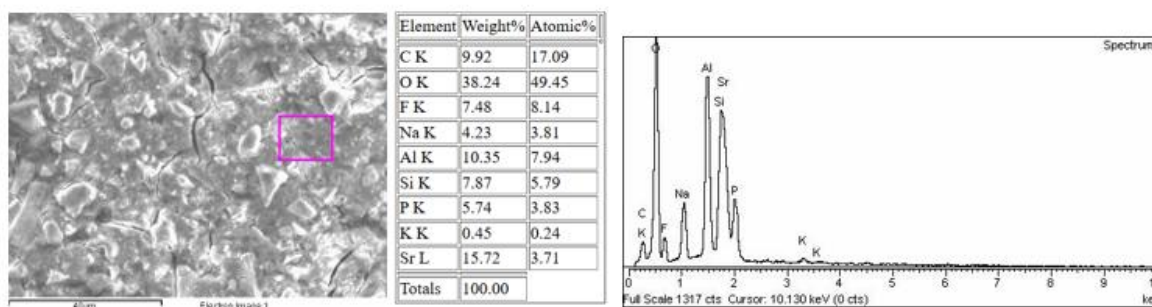
(B)

Slika 34. SEM-EDS analiza uzorka Equia+BAG-F pri povećanju od 100 X pokazala je glatku površinu i sadržaj sličan originalnoj Equia formulaciji s višim razinama fluorida (A). Pri povećanju od 1000x otkrivene su niske razine kalcija podrijetlom iz BAG-F kao sastavni dio uzorka cementa (B).

SEM-EDS analiza Fuji cementa pokazala je glatku površinu s pukotinama i površinskim nedostacima zbog postupka vakuumske sušenja. Sastav Fujija bio je sličan originalnoj formulaciji Equie (slika 35A,B).



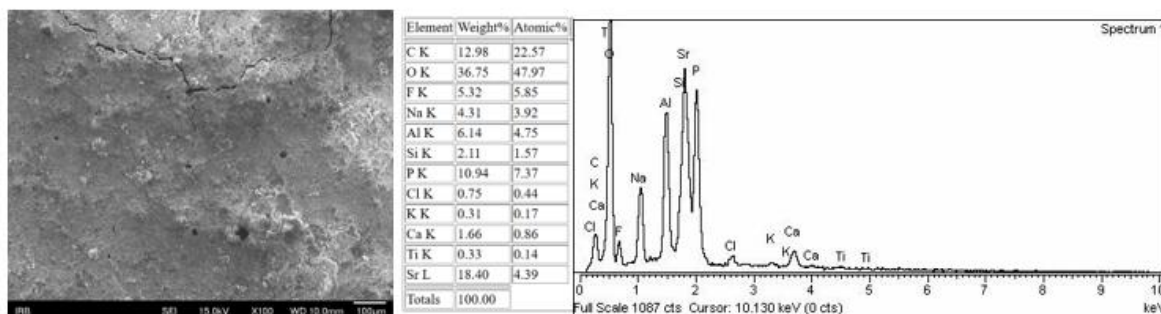
(A)



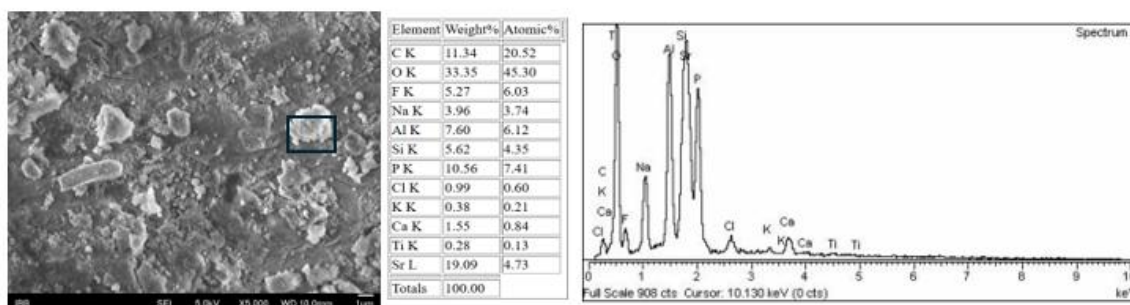
(B)

Slika 35. SEM-EDS analiza Fuji IX pri povećanju od 100x pokazala je glatku površinu s pukotinama i površinskim nedostacima uzrokovanim postupkom sušenja u vakuumu. Sastav Fuji IX odgovara stroncij-fluoro-aluminosilikatu (A). Čestice stakla blizu površine odgovaraju silikatnim česticama fluoro-aluminosilikatnog staklenog punila Fuji IX (B).

U usporedbi s Fujijem, uzorak Fuji+BAG pokazao je veći sadržaj kalcija, a manji fluora i aluminijsa (slika 36A). Na površini su uočljive nepravilnosti koje mogu odgovarati usitnjenim česticama uzorka koje su prijanjale uz površinu. Vjerojatno su nastale zbog manipulacije uzorkom nakon postupka sušenja koja je uzorak učinila sklonim pucanju i fragmentaciji. Ovu pretpostavku podupire činjenica da je sastav nečistoća na površini sličan ukupnom sastavu uzorka (slika 36B).



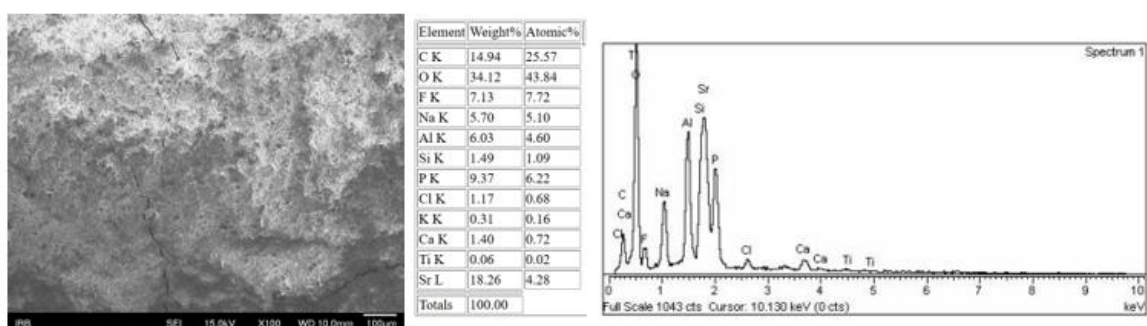
A



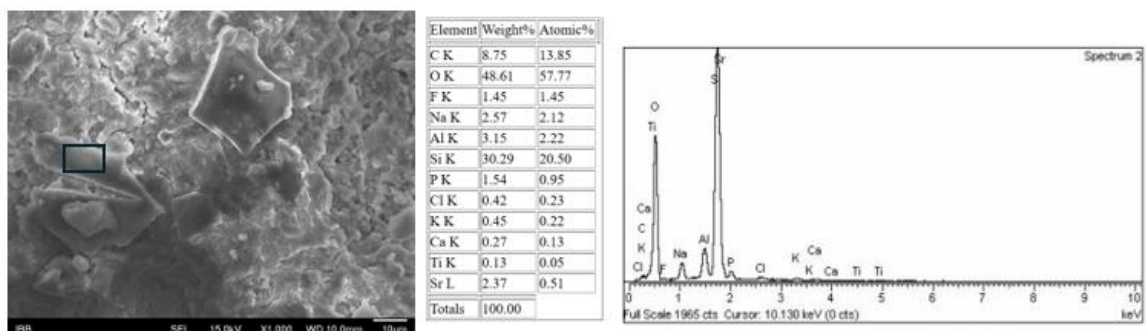
B

Slika 36. SEM-EDS analiza Fuji+BAG uzorka pri povećanju od 100x pokazala je veći sadržaj kalcija, a manji sadržaj fluora i aluminijsa u usporedbi s Fuji uzorkom (A). Nečistoće na površini pri povećanju od 5000x imale su sličan sastav kao uzorak u većem mjerilu (B).

Analiza je pokazala nešto viši sadržaj fluorida i detektabilne masene udjele kalcija u uzorku Fuji+BAG-F, što se može povezati s modifikacijom s BAG-F (slika 37A). Čestice stakla blizu površine odgovarale su silikatnim česticama iz fluoro-aluminosilikatnog staklenog punila Fuji materijala (slika 37B).



A



B

Slika 37. SEM-EDS analiza uzorka Fuji+BAG-F pokazala je nešto viši sadržaj fluorida i detektabilne masene udjele kalcija (A). Čestice stakla blizu površine odgovaraju silikatnim česticama fluoro-aluminosilikatnog staklenog punila Fuji materijala (B).

5. RASPRAVA

5.1. Otpuštanje fluoridnih i kalcijevih iona

Oslobađanje iona i kariostatski učinak komparativna su prednost staklenoionomernih materijala kao materijala za zamjenu amalgama. Rezultati ove studije pokazuju da se oslobađanje i ponovno otpuštanje fluoridnih iona iz staklenoionomernih materijala modificiranih eksperimentalnim bioaktivnim staklima koja sadrže cink i fluorid značajno povećalo. Također, oslobađanje iona kalcija bilo je veće iz uzoraka modificiranih BAG-F-om i u neutralnom i u kiselom okruženju. Stoga je prihvaćena hipoteza da staklenoionomerni restorativni materijali modificirani eksperimentalnim bioaktivnim staklom otpuštaju više iona fluora i kalcija od komercijalnih materijala.

Prethodno je pokazano da povećano otpuštanje iona, prvenstveno Ca^{2+} , F^- i PO_4^{3-} , ali i Sr^{2+} iz materijala, može biti povezano s inhibicijom nastanka sekundarnog/rekurentnog karijesa, zaustavljanjem i poništavanjem početnog karijesa na susjednim površinama zuba te remineralizacijom djelomično demineraliziranog karijesnog dentina ispod ispuna (44–46, 134). Točnije, fluorid pokazuje kariostatska svojstva kroz smanjenu proizvodnju bakterijske kiseline, usporavanje ili inhibiranje demineralizacije i induciranje remineralizacije (134, 135). Fluorid sam po sebi doprinosi stabilizaciji i smanjenju topljivosti apatita, ali u odsustvu optimalne koncentracije iona kalcija i fosfata, remineralizacija može biti ograničena. Kalcijevi su ioni potrebni za rast kristala hidroksiapatita, dok fluorid stabilizira strukturu i poboljšava otpornost na smanjenje pH. Povećano oslobađanje iona kalcija iz modificiranih materijala povećava koncentraciju iona kalcija u biofilmu, pomičući ravnotežu s ionskih vrsta kalcija i fosfata prema hidroksiapatitu, čime se zaustavlja proces demineralizacije i potiče remineralizacija (134, 136). Pri pH vrijednosti ispod kritične ($\sim 5,5$ u caklini), prisutnost viših koncentracija Ca^{2+} i PO_4^{3-} smanjuje otapanje kristalića hidroksiapatita te pospješuje ponovo formiranje kristalnih nanoslojeva. Materijali koji kontinuirano ispuštaju kalcijeve ione omogućuju rezervu Ca^{2+} u mikro-okruženju, čime se prolongira remineralizacijski potencijal (137, 138). Stoga rezultati ove studije snažno upućuju na to da je modifikacija Fuji IX i Equia Forte HT s 5 % masenog udjela BAG-om i BAG-F-om imala pozitivan učinak zaštite od karijesa i moguće kliničke implikacije.

Kapacitet oslobađanja i ponovnog punjenja iona smatra se bitnim aspektom „pametnog“ ponašanja SIC (17). Bioaktivnost, remineralizacija i regeneracijski kapacitet pokušavaju se poboljšati dodavanjem bioaktivnog stakla u staklenoionomerni prah (145). Bioaktivno staklo 45S5, originalne formulacije prema Henchu, prvi put je korišteno u stomatologiji kao nadomjestak za kost (83). Različiti kemijski sastavi BAG-a korišteni su u studijama koje procjenjuju svojstva restaurativnih materijala (99,108), a dokazano je da su biološki aktivni eksperimentalni materijali modificirani BAG-om stimulirali remineralizaciju i pokazali antimikrobno djelovanje (108). Ipak, modifikacija s 45S5 i drugim formulacijama BAG-a smanjuje omjer aluminijevog oksida i silicija, tj. smanjuje se alkalnost stakla. Reakcija stvrdnjavanja je kiselo-bazna reakcija, pa smanjena alkalnost stakla usporava reakciju, a maseni udio treba biti uravnotežen (17). Zandi Karimi i sur. (111) izvijestili su da su optimalna mehanička i remineralizirajuća svojstva SIC-a koji sadrži 45S5 BAG postignuta s 5% masenog udjela, što je maseni postotak korišten u ovoj studiji. Uzorak oslobađanja fluorida u ovoj studiji bio je sličan u originalnim i modificiranim formulacijama te je slijedio tipičnu krivulju zabilježenu u mnogim prethodnim studijama, odražavajući početno naglo povećanje (eng. *burst effect*) zbog visokog difuzijskog gradijenta labavo vezanih fluoridnih iona koji ne sudjeluju u umrežavanju cementnog matriksa (146). Tijekom stvrdnjavanja konvencionalnih staklenoionomernih cemenata, čestice stakla reagiraju s polialkenoičnom kiselinom iz tekuće komponente materijala, kationi se oslobađaju na površinu, a umrežavanjem Ca^{2+} s karboksilnim skupinama dolazi do geliranja. Jača mreža nastaje sporom zamjenom nekih umreženih Ca^{2+} s Al^{3+} u procesu sazrijevanja, tijekom nekoliko mjeseci (146). U novijim formulacijama poput Fuji IX i Equia, zamjena Ca^{2+} sa Sr^{2+} ubrzava stvaranje cementnog matriksa jer Sr^{2+} ima nižu energiju ionizacije i reaktivniji je. Fluoridni ioni ne sudjeluju u umrežavanju i ostaju nevezani u potpuno stvrdnutom cementu. Oslobađaju se prvenstveno difuzijom. Sazrijevanje matriksa ometa difuziju F^- , što rezultira usporavanjem propuštanja F^- . Brauer i sur. (70) u prvoj višejezgrenoju karakterizaciji strukture bioaktivnih stakala koja sadrže fluorid pokazali su da se u njima ne stvaraju Si-F veze ili nepremosni fluoridi u značajnoj mjeri. Umjesto toga, fluor tvori komplekse s kalcijem i natrijem. Fosfat je prisutan kao ortofosfat. Stoga ne čini dio stvarne okosnice staklene mreže i nema Si-O-P veza (70).

Stakleno-hibridni materijal Equia sadrži vrlo male reaktivne čestice te tako veća površina staklenih reaktivnih čestica može poboljšati hidrataciju i umrežavanje kationa s karboksilnim skupinama povećavajući brzinu sazrijevanja. Kada cement sazrije, F⁻ sporije difundira iz matriksa, što može objasniti zašto Equia oslobađa manje F⁻ od Fujija. To je u skladu s rezultatima koji su pokazali da visokoviskozni staklenoionomerni materijali koji sadrže veći udio manjih čestica punila oslobađaju manje fluorida (44).

Nadalje, povećano oslobađanje F⁻ iz modificiranih materijala, posebno EBF, može se pripisati većem ukupnom udjelu fluorida u reaktivnoj smjesi praha. Osim sadržaja fluorida, na njihovo je propuštanje mogla utjecati i promijenjena kinetika umrežavanja. U prethodnom odlomku već je spomenuta veličina čestica, međutim na stvrđnjavanje utječu i sastav materijala i vanjski čimbenici poput pH i viška vode (147). Povećano otpuštanje fluoridnih iona u skupinama modificiranim bioaktivnim staklom bilo je izraženije u Equiji nego u Fujiju. To se može objasniti činjenicom da je Equia staklohibrid pa se dodatkom čestica bioaktivnog stakla originalnom prahu u prosjeku smanjila veličina čestica, čime se smanjio utjecaj visoko reaktivnih malih čestica na brzo stvrđnjavanje.

Već stvrđnuti materijali na bazi staklenoionomera mogu apsorbirati ione fluora prilikom ponovnog punjenja (eng. *recharging*). Općenito, materijali s većim inicijalnim oslobađanjem fluorida pokazuju veće ponovno oslobađanje F⁻ nakon ponovnog punjenja (44). Ova pozitivna korelacija između oslobađanja/ponovnog oslobađanja F⁻ uočena je i u ovoj studiji i slaže se s prethodnim studijama (45, 52). Većina F⁻ oslobođena je iz BAG-F modificiranih Equia i Fujija (EBF, FBF), nakon čega slijede modifikacije BAG-om (EB, EF). Najmanje F⁻ oslobađale su originalne formulacije Fujija i Equije, a isti obrazac uočen je i kod oslobađanja F⁻ nakon ponovnog punjenja fluoridima. Prethodno je pokazano da na kapacitet primitka fluorida utječu debljina hidrogela i poroznost materijala (51). Zato se staklenoionomerni materijali na bazi vode općenito učinkovito ponovno pune, što je potvrđeno i u ovoj studiji. Otapanje staklenih punila koja sadrže fluorid moglo bi objasniti početno veće oslobađanje F⁻ iz uzoraka BAG-F i BAG modificiranih uzoraka. To također može objasniti veći primitak i ponovno oslobađanje F⁻ zbog veće poroznosti.

U ovoj studiji uzorci su prije premazivanja fluoridnim gelom maturirali u deioniziranoj vodi 91 dan, a pokazano je da se s vremenom povećava hrapavost površine uzoraka,

odnosno smanjuje otpornost na trošenje (148). Ova promjena u morfologiji površine vjerojatno je povezana s primitkom fluorida. Istraživanjem Nicholsona i Czarnecke (149) pokazalo se da sposobnost SIC-a da apsorbira fluorid iz otopine opada starenjem cementa kroz razdoblje od 30 dana. Nasuprot tome, rezultati ove studije pokazuju da je nakon iscrpljivanja fluorida iz materijala kroz razdoblje od 3 mjeseca ipak moguć njegov ponovni primitak iz fluoridnog gela. Sredstvo za ponovno punjenje uzoraka korišteno u ovoj studiji ima koncentraciju 1450 ppm fluorida, što je usporedivo s koncentracijama fluorida u zubnim pastama dostupnima na tržištu. Dokazano je da je česta primjena niskih doza fluorida učinkovitija od primjene visokih doza nekoliko puta godišnje, jer se F^- iz caklinske tekućine, a time i adsorbirani F^- , održavaju visokima čestim primjenama (150). Samo 0,08 ppm fluorida može preokrenuti proces demineralizacije zdrave zubne strukture (151). Laboratorijski nalazi pokazuju da koncentracija fluorida od 2 ppm zaustavlja stvaranje karijesnih lezija inhibirajući stvaranje bakterijskog plaka i potičući stvaranje fluoroapatita (152). Kumulativno oslobađanje F^- u ovoj studiji u svim materijalima bilo je dovoljno da pokaže protukarijesnu aktivnost. El-Adl i sur. (153) korelirali su otpuštanje fluorida s inhibitornim učinkom na sekundarni karijes. Otkrili su da kumulativna količina od 60,3 ppm F^- tijekom 2 tjedna iz samoljepljivog hibridnog kompozita rezultira klinički relevantnom sposobnošću inhibicije sekundarnog karijesa. Ipak, u istoj je studiji pokazano zaustavljanje lezije s mnogo nižim oslobađanjem F^- iz alkazitnog materijala od svega 17,56 ppm, što implicira da su svi testirani materijali u ovoj studiji oslobodili dovoljno F^- za inhibiciju sekundarnog karijesa, čak i tijekom kratkog razdoblja od 14 dana. Štoviše, podaci sugeriraju da se dovoljne kumulativne razine F^- za inhibiciju karijesa mogu postići 3 tjedna nakon ponovnog punjenja. To je posebno naglašeno u uzorcima Equia modificiranim s BAG-F. Pokazalo se da je inhibicija demineralizacije logaritamska funkcija koncentracije fluorida u otopini (154). Ovi rezultati ukazuju na to da se fluorid prisutan u otopini koja okružuje kristale snažno adsorbira na površinu karboniziranih kristala apatita, djelujući kao snažan zaštitni mehanizam protiv otapanja kristalne površine kiselinom (39).

Fuji i Equia su na bazi SiO_2 , SrO i Al_2O_3 . Cinkov oksid prisutan u eksperimentalnim BAG-ovima djeluje kao modifikator mreže, narušavajući vezu Si-O-Si u staklenoionomeru, čineći originalne čestice stakla osjetljivijima na napad polialkenoične

kiseline. Iako cink može ugroziti hidrolitičku stabilnost polialkenoatnih cementa ako sadrže CaO (155), također je dokazano da alumino-cinkovo-silikatna stakla čine hidrolitički stabilne cemente s kratkim vremenima vezivanja i visokim tlačnim čvrstoćama (155). Stoga, SrO prisutan kao praškasta komponenta originalnih formulacija ispitivanih komercijalnih materijala Fuji i Equia te povećani sadržaj ZnO u modificiranim formulacijama mogu doprinijeti stabilnom materijalu s kratkim vremenima vezivanja. Međutim, unatoč deklariranoj odsutnosti kalcija (156–158), procjena oslobođenih iona kalcija u ovom istraživanju pokazala je da oba originalna materijala sadrže kalcij, ali u vrlo maloj količini. ICP-MS analiza pokazala je da je udio CaO u prahovima BAG i BAG-F redom 26,4% i 23,46 % što može utjecati na vrijeme stvrdnjavanja i hidrolitičku stabilnost (s obzirom na prisutnost cinkova oksida u oba praha) bez obzira na to što je maseni udio BAG-a ili BAF-F-a u praškastom dijelu modificiranog materijala bio svega 5%. U budućem istraživanju bilo bi značajno vidjeti kako ove modifikacije utječu na vrijeme stvrdnjavanja materijala i hidrolitičku stabilnost, ali i na druga mehanička svojstva, osim mikrotvrdoće.

Oslobađanje kalcijevih iona moglo bi se pripisati otapanju materijala, posebno u početnim fazama kada nije potpuno stvrdnut i maturiran (146). Iako sazrijevanje traje nekoliko mjeseci, suvremeni visokoviskozni staklenoionomeri navodno su manje skloni upijanju ili gubitku vode prije sazrijevanja, čak i bez zaštitnih premaza ili lakova, pa se oslobađanje iona kalcija ne može u potpunosti objasniti otapanjem materijala. Iako se originalne formulacije Fuji IX i Equia Forte temelje na SrO, a ne na CaO, naši rezultati sugeriraju da originalne formulacije sadrže određenu koncentraciju kalcija. Ipak, moramo primijetiti da su te koncentracije niske. Tu tezu podupire i nedavno istraživanje Alibertija i sur. (159). Kumulativno oslobađanje kalcijevih iona u tri tjedna u neutralnim uvjetima bilo je 1,54 i 0,71 mg/L (ppm) za Fuji IX i Equiu ($\text{ppm} = \text{mg/L} \div \rho (\text{H}_2\text{O}) \text{ g/mL}$). Važno je da nije sav kalcij podjednako vezan u vezanom staklenoionomeru (originalnim i modificiranim) i da se otpuštanje kalcijevih iona ne može jednostavno povezati s prekidanjem ionskih veza s karboksilnim skupinama, tj. dezintegracijom. Većina otpuštenih iona kalcija posljedica je površinskog otapanja staklenih čestica i difuzije labavo vezanog kalcija ili nevezanog viška Ca^{2+} koji nije integriran u staklenoionomernu mrežu. Ovo nije isključivo površinski fenomen - nevezani ioni mogu difundirati kroz

mikrokanale ako je veći dio materijala hidratiziran (160). Povećano oslobađanje kalcijevih iona iz modificiranih uzoraka moglo bi se pripisati povećanom sadržaju labavo vezanog kalcija u modificiranom materijalu s obzirom na već spomenuti značajan maseni udio CaO u uzorcima praha BAG-F i BAG od 23,45 % odnosno 26,4 %. U ovom istraživanju na Equiu nije nanesen zaštitni premaz, eng. *coat*, stoga je bilo za očekivati da će početna apsorpcija vode biti veća (146), što bi teoretski moglo utjecati na oslobađanje iona. Međutim, razina oslobođenog Ca²⁺ iz Equia bila je najniža.

Prethodno je objavljeno da se materijal dezintegrira u kiselom mediju protonacijom karboksilne skupine i oslobađanjem Ca²⁺ (160). Teško je nagađati o izvoru kalcijevih iona oslobođenih u ovoj studiji, ali moguće je da je, osim površinskog otapanja staklenih čestica u kiselom okruženju, dio otopljenog Ca²⁺ nastao iz prekinutih ionskih veza. To je vjerojatno zato što je mliječna kiselina (pKa = 3,86) jača od poliakrilne kiseline (pKa=6) pa se formira kalcijev laktat, a on disocira (161). Bez obzira na izvor oslobođenih iona kalcija, njegovo oslobađanje u Fujiju i njegovoj modifikaciji bilo je značajno veće pri pH 5,4. S druge strane, ovaj učinak nije bio statistički značajan u Equiji i njezinoj modifikaciji. To može značiti da je Fuji skloniji otapanju pri pH koji se smatra kritičnim za nastanak karijesa. Stoga, s obzirom na značajno veće oslobađanje fluorida iz Equia BAG-F modifikacije i činjenicu da kiselo okruženje ne povećava njegovu topljivost u usporedbi s neutralnim pH, može biti prikladan materijal za restauraciju aproksimalnih površina tehnikom otvorenog sendviča ili kao ispun pod dugotrajnom restauracijom. Osim toga, osigurava okruženje s povećanom koncentracijom F⁻, što doprinosi kariostatskim učincima i povećanom koncentracijom Ca²⁺, što pogoduje remineralizaciji.

Budući da se SIC temelji na vodi, bilježenje gubitka mase nije prikladna metoda za mjerenje otapanja materijala i procjenu raspadanja jer ne daje uvid u brzinu otapanja pojedinačnih komponenti cementa. U slučaju hidratiziranog SIC-a, otopljene skupine razlikuju se od skupina u neotopljenom materijalu. Većina iona koji se otpuštaju prisutna je u nekoliko spojeva u stvrdnutom cementu (160). Stoga je analiza količine svakog iona najprikladnija metoda za analizu otapanja cementa, iako ne odražava izravno stupanj dezintegracije matriksa jer nisu svi ioni aktivno uključeni u ionsko vezanje (poput F⁻ i labavo vezanog Ca²⁺). Važno je naglasiti ograničenje u provođenju ove i drugih studija

otpuštanja iona zbog mijenjanja otopine u kojoj se uzorak čuva, odnosno pohrani u svježju otopinu, nakon svakog mjerenja količine otpuštenih iona ionski selektivnom elektrodom. Naime, učestalost zamjene otopine proporcionalna je otapanju cementa. Kad se otopina ne bi zamijenila, koncentracija otopljenih iona bi se povećala, i ovisno o ionskoj jakosti, u određenom trenutku stvrdnuti cement mogao bi apsorbirati te iste otopljene ione (uključujući Ca^{2+}). Drugo ograničenje povezano je s fluorid-selektivnom elektrodom koja se ne može koristiti u kiselom mediju, dok se kalcij-selektivna elektroda može koristiti i u neutralnom i kiselom mediju te može registrirati čak i vrlo male količine kalcijevih iona. S druge strane, iako ICP-MS može dati simultanu analizu više oslobođenih elemenata u eluatu, njome se ne može detektirati fluorid, tako da je metoda izbora za očitavanje koncentracije otpuštenih iona u ovoj studiji bila upravo ionski selektivna elektroda. Također, u ovoj studiji uzorci nisu ponovno punjeni kalcijevim ionima. U budućoj studiji moglo bi se pokušati ponovno puniti (eng. *recharge*) visokoviskozne staklenoionomerne materijale i njihove modifikacije lakovima koji sadrže amorfnu kalcijev fosfat te procijeniti ponovno oslobađanje Ca^{2+} . Iako su materijali korišteni u ovoj studiji na bazi Sr^{2+} , prethodno je istraživanje pokazalo da svi staklenoionomerni materijali osim Equia cementa mogu ponovno primiti (eng. *recharge*) te ponovno oslobađati Ca^{2+} , čak i ako su početne vrijednosti oslobođenog Ca^{2+} niske ili ispod granice detekcije (44). Kalcijevi se ioni mogu ugraditi u djelomično demineralizirani hidroksiapatit u procesu rekristalizacije (162). Nedavna studija pokazala je da stroncijevi ioni također mogu prodrijeti u demineralizirani dentin (163), što sugerira da kapacitet remineralizacije nije smanjen u SIC-ima na bazi stroncija. Iako postoje sumnje u potencijalne štetne učinke stroncija, dokazano je da stroncijevi ioni mogu zamijeniti kalcijeve ione u bioaktivnim materijalima bez štetnih lokalnih ili sistemskih učinaka (164). Zamjena Ca^{2+} sa Sr^{2+} rezultira širenjem staklene mreže zbog većeg ionskog radijusa Sr^{2+} u usporedbi s Ca^{2+} (165), što mijenja in vitro ponašanje ovih stakala. Posebno pri potpunoj zamjeni Ca^{2+} sa Sr^{2+} , stvaranje apatita je značajno poboljšano (166). I fluoridi i stroncijevi ioni imaju pozitivan učinak na napredak remineralizacije per se, iako učinak fluorida ne ovisi o prisutnosti stroncija, a čini se da ni učinak stroncija ne ovisi o prisutnosti fluorida. Međutim, u kombinaciji djeluju sinergistički jer zajedno poboljšavaju kristalnost apatita i povezani su sa značajnim smanjenjem kiselinske reaktivnosti sintetskih karboniziranih apatita (167).

5.2. Mikrotvrdoća

Otpuštanje iona iz bioaktivnih materijala donosi brojne prednosti spomenute u prethodnom poglavlju, no materijali s vremenom postaju porozniji, što utječe na fizikalna i mehanička svojstva (164). Zbog spomenutog sinergističkog učinka fluorida i stroncija u kontekstu kapaciteta remineralizacije (165), pozitivnog učinka sadržaja cinka kao dijela staklenih čestica na poboljšanje reakcije stvrdnjavanja i poboljšanih mehaničkih svojstava nakon modifikacije SIC materijala bioaktivnim staklom u masenom udjelu od 5% (111), cilj je bio ispitati kako modifikacija bioaktivnim staklom koje sadrži spojeve fluora i cinka utječe na mikrotvrdoću materijala Fuji IX i Equia Forte HT Fil.

U pogledu mikrotvrdoće, ovo istraživanje pokazalo je da mikrotvrdoća staklenoionomernih cemenata značajno varira ovisno o vrsti materijala i vremenu mjerenja. Općenito, uočen je porast mikrotvrdoće kod svih ispitivanih skupina tijekom vremena odnosno nakon 7 dana u odnosu na prva 24 sata, što je u skladu s poznatim mehanizmom stvrdnjavanja staklenoionomernih materijala (45, 112, 162, 163). Proces sazrijevanja uključuje kontinuiranu kiselinsko-baznu reakciju između polialkenoatne kiseline i staklene faze, pri čemu dolazi do postupne formacije čvrste ionske mreže te dodatnog unakrsnog umrežavanja tijekom prvih dana nakon vezanja (16, 17, 19).

Također, studija je pokazala da dodavanje eksperimentalnog bioaktivnog stakla BAG komercijalnim materijalima nije značajno utjecalo na mikrotvrdoću nakon 24 sata i 7 dana. S druge strane, modifikacija BAG-F-om značajno je smanjila mikrotvrdoću u oba materijala. Stoga je hipoteza da će modifikacija materijala Fuji IX i Equia Forte HT bioaktivnim staklima BAG i BAG-F značajno povećati vrijednosti mikrotvrdoće odbačena.

Najviše vrijednosti mikrotvrdoće zabilježene su kod skupina Fuji IX (F) i njegove modificirane varijante FB, koje su već nakon 24 sata imale relativno visoku mikrotvrdoću, a nakon 7 dana pokazale daljnje povećanje. Ovi nalazi potvrđuju visoku mehaničku otpornost klasičnih konvencionalnih staklenoionomernih materijala, ali i ukazuju da modifikacija bioaktivnim staklom u umjerenom postotku ne narušava njihova mehanička svojstva. Skupine E, EB i EBF pokazale su niže vrijednosti mikrotvrdoće u usporedbi s Fuji IX modifikacijama. Iako je tijekom vremena došlo do statistički

značajnog povećanja mikrotvrdoće, osobito kod skupina E i EB, vrijednosti su i nakon 7 dana ostale niže u odnosu na Fuji IX. Posebno se ističe skupina EF, koja je u oba mjerna razdoblja pokazivala najniže vrijednosti mikrotvrdoće. Ovaj rezultat sugerira da sastav eksperimentalnog bioaktivnog stakla BAG-F može ometati pravilno formiranje ionske mreže, što se odražava u smanjenju mehaničkih svojstava materijala.

Učinci modifikacije BAG-om i BAG-F-om na mikrotvrdoću SIC-a mogu se objasniti razlikama u osnovnom sastavu između Fuji IX i Equia materijala, kao i potencijalnim utjecajem bioaktivnog stakla na proces stvrdnjavanja. Naime, mehanizam stvrdnjavanja staklonoionomernih cemenata uključuje hidrataciju čestica praha i umrežavanje karboksilnih skupina polialkenske kiseline s oslobođenim ionima (Sr^{2+} i Al^{3+}), nakon čega se formira silikagel. Sporo pokretni Al^{3+} ioni ulaze u vodeni medij i umrežavaju lance poliakrilne kiseline, istiskujući Ca^{2+} ili ione stroncija. To povećava konačnu čvrstoću očvrstlog cementa (16–18). U novijim formulacijama poput Fuji IX i Equia, zamjena kalcija stroncijem ubrzava stvaranje matrice jer stroncij ima nižu energiju ionizacije i reaktivniji je. Kada se BAG doda izvornoj SIC strukturi, posebno onoj koja nije visoko reaktivna u kiselinsko-baznoj reakciji (npr. 45S5, koji nije izvor Al^{3+}), on ne sudjeluje izravno u stvaranju ionske mreže, već se u početnim fazama ponaša više kao inertno ili pasivno punilo. To zapravo smanjuje udio visoko reaktivnih čestica. Hidracija čestica praha u kiselinsko-baznoj reakciji je manje učinkovita, što rezultira nižom brzinom umrežavanja u matriksu polisoli. S obzirom da se matriks sastoji od mješavine djelomično reagiranih ili nereagiranih čestica stakla (čiji se udio može povećati u modificiranim materijalima), to može izravno utjecati na mikrotvrdoću. Taj je učinak posebno izražen u prethodno optimiziranim sustavima poput Equia cementa, gdje dodatak BAG-F-a može negativno utjecati na mehanička svojstva, kao što pokazuju naši rezultati za EF skupinu.

Budući da mikrotvrdoća odražava otpornost materijala na trošenje i njegovo ponašanje pod opterećenjem, posebno je važno napomenuti da Fuji IX formulacije, sa ili bez BAG-a, pružaju bolju početnu mehaničku stabilnost. Međutim, očekivane su niže početne vrijednosti mikrotvrdoće u Equia cementu zbog toga što u ovoj studiji nije korišten EQUIA Forte Coat. Inače, ovaj restorativni sustav dizajniran je za primjenu zajedno s vlastitim nano-punjenim premazom debljine 35–40 μm koji infiltrira površinske

poroznosti i nepravilnosti te štiti materijal od vlage i povećava otpornost na trošenje tijekom ranih faza stvrdnjavanja. Pokazalo se da nanošenje premaza značajno povećava njegova mehanička svojstva (170). Stoga ne čudi da su vrijednosti mikrotvrdoće Equia modifikacija niže od Fuji modifikacija. Važno je, međutim, naglasiti kako je primarna svrha ove studije bila testirati utjecaj modifikacija bioaktivnim staklom na svaki materijal. Naši rezultati su stoga u suprotnosti sa studijama koje su testirale mikrotvrdoću korištenjem materijala za premazivanje (eng. *coat*) za Equia Forte jer nano-punjena smola značajno doprinosi povećanoj otpornosti materijala na mehaničke sile. To objašnjava zašto je Equia Forte Fil pokazao bolje vrijednosti mikrotvrdoće od Fuji IX u studiji Moshaverinia i sur. (171) i Bilge i sur. (169). Ipak, naše rezultate prati i nedavna studija Franić i sur. (172) koja također pokazuje veću mikrotvrdoću Fuji IX naspram Equia Forte HT bez zaštitnog premaza. Dobiveni rezultati također su u skladu s prethodnim istraživanjem Matsuya i sur. (173) koji su izvijestili da se SIC obogaćen bioaktivnim staklom s dodatkom MgO stvrdnjava kiselinsko-baznom reakcijom između bazičnog stakla i kiseline, slično kao i sam SIC. Međutim, tlačna čvrstoća stvrdnutog SIC na bazi bioaktivnog $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{(-MgO)}$ stakla bila je znatno niža od čvrstoće SIC-a. Ovaj nalaz je u skladu s modifikacijama staklenoionomera BAG-F-om u ovoj studiji. Nasuprot tome, originalna formulacija cementa Fuji IX (F) i njegova modificirana varijanta FB čine skupinu s najvišim vrijednostima mikrotvrdoće nakon 7 dana, bez statistički značajnih razlika među njima. Vrijednosti mikrotvrdoće unutar ove dvije skupine bile su vrlo bliske (64,48 prema 63,44), što ukazuje da dodatak bioaktivnog stakla cementu Fuji IX ne utječe negativno na njegovu mehaničku stabilnost tijekom prvog tjedna stvrdnjavanja. Ovaj rezultat sugerira da Fuji IX, kao visokoviskozni staklenoionomerni cement, ima stabilnu i jaku ionsku mrežu koja može integrirati bioaktivne čestice bez ugrožavanja mehaničkih svojstava.

Također, skupine E i EB imaju usporedive vrijednosti mikrotvrdoće (u rasponu od približno 45,9 do 49,1). Pokazalo se da interakcija BAG-F s matriksom Equia može dovesti do smanjenja učinkovitosti stvrdnjavanja i stvaranja manje jake ionske mreže. Naime, najnižu mikrotvrdoću, statistički značajno različitu od svih ostalih skupina, pokazala je EF skupina. Vrijednost mikrotvrdoće od 30,20 ukazuje na značajno smanjenje mehaničke otpornosti u usporedbi s komercijalnom Equiom i drugim skupinama. Ovaj

rezultat ukazuje na to da udio eksperimentalnog bioaktivnog stakla BAG-F može negativno utjecati na strukturni integritet cementa, vjerojatno zbog smanjenja dostupnosti čestica za stvaranje čvrste ionske mreže ili promjena u brzini i mehanizmu stvrdnjavanja.

Povećani sadržaj cinka u eksperimentalnim skupinama EF i FF nije doveo do očekivanog povoljnog učinka sadržaja cinka na mikrotvrdoću. Naši rezultati su u skladu s nalazima studije Zoergiebela i sur. (174) u kojoj pozitivan učinak cinka na mehaničko ponašanje ChemFil Rocka nije potvrđen, suprotno tvrdnjama proizvođača da bi trebao poboljšati stvrdnjavanje i povećati mehaničku čvrstoću. To se može objasniti cinkovim oksidom prisutnim u eksperimentalnim BAG-ovima koji narušava vezu Si-O-Si u staklu SIC-a, čineći originalne čestice stakla osjetljivijima na napad polialkenske kiseline. Nadalje, cink može ugroziti hidrolitičku stabilnost polialkenoatnih cementa ako sadrže CaO, ali alumino-cinkovo-silikatna stakla daju hidrolitički stabilne cimente s kratkim vremenom stvrdnjavanja i visokim tlačnim čvrstoćama (155). Naši rezultati su u skladu sa studijom Abuzinadaha i sur. (168) u kojoj su rezultati pokazali da Fuji IX ima veće vrijednosti mikrotvrdoće od Equia Forte, prije i nakon termičkog starenja termocikliranjem. Utvrđeno je da staklenohibridni restorativni materijal pokazuje usporedivu tlačnu čvrstoću i mikrotvrdoću sa konvencionalnim staklenoionomerom. Međutim, staklenohibridni restorativni materijal pokazao je oko 40% niže vrijednosti mikrotvrdoće od ostalih testiranih materijala (smolom modificirani staklenoionomer i nanohibridni kompozit), što sugerira da su konvencionalni SIC i staklohibrid prikladniji za restauracije izložene nižim okluzalnim silama. Prethodne studije u literaturi dokumentirale su da što je veći udio punila u materijalu, to je veća otpornost materijala na udubljivanje, odnosno mikrotvrdoća (169, 170). Prabhakar i sur. (107) pokazali su da uključivanje bioaktivnog stakla S53P4 u SIC značajno povećava površinsku mikrotvrdoću, pripisujući to početnom oslobađanju iona i sekundarnoj mineralizaciji. Naši nalazi slijede sličan trend, s izraženim povećanjem nakon 7 dana, vjerojatno zbog kontinuirane izmjene iona između čestica BAG-a i okolnog medija, što doprinosi sazrijevanju cementa. Zandi Karimi i sur. (111) dodatno su pokazali da dodavanje 5% masenog udjela djelomično kristalnog 45S5 BAG-a poboljšava mehanička svojstva SIC-a, uključujući mikrotvrdoću, a istovremeno potiče remineralizaciju unutar matrice. Naši rezultati nakon 7 dana mogu odražavati ovu postupnu mineralizaciju potaknutu oslobađanjem Ca^{2+} i PO_4^{3-} . Budući da veličina i

raspodjela punila također utječu na performanse SIC-a, relevantna su zapažanja Najeeba i sur. (30) o ulozi nanočestica u poboljšanju mikrotvrdoće i bioaktivnosti. Iako ovdje nisu korištene klasične nanočestice, BAG čestice veličine $< 30 \mu\text{m}$ mogu imati sličan učinak povećanjem površinskih interakcija. Konačno, Dionysopoulos i sur. (177) naglasili su važnost odabira optimalne vrste i koncentracije punila. Iako se njihov rad tiče nanočestica TiO_2 i hidroksiapatita, princip kontrolirane modifikacije SIC primjenjuje se jednako. Rezultati ove studije potvrđuju da umjereni dodatak bioaktivnog stakla BAG dovodi do stabilnog porasta mikrotvrdoće tijekom vremena, a porast tijekom vremena zabilježen je i kod modifikacije BAG-F, no vrijednosti su značajno manje. Ova zapažanja naglašavaju potrebu za daljnjim istraživanjima usmjerenima na optimizaciju količine i vrste bioaktivnog stakla u SIC formulacijama kako bi se postigla optimalna ravnoteža između mehaničkih svojstava i bioaktivnog potencijala. Zaključno, rezultati ove studije ističu važnost uravnoteženja koncentracije i sastava BAG-a kako bi se optimizirala kombinacija mehaničke stabilnosti i bioaktivnosti. Fuji IX modificiran BAG česticama s nižim udjelom spojeva fluora i cinka pokazao se kao materijal s najboljim mehaničkim svojstvima u skupini eksperimentalnih materijala, dok je eksperimentalni materijal Equia s dodatkom bioaktivnog stakla s većim udjelom spojeva cinka i fluora (EF) imao najlošije rezultate.

5.3. Vizualizacija površine i bioaktivnost

Prilikom razmatranja potencijalne bioaktivnosti potrebne su dodatne elementarne ili kemijske analize. Iz tog razloga, u ovoj studiji je odabrana SEM-EDS analiza. SEM pruža snimanje visoke rezolucije koje nudi kvalitativni uvid u morfologiju uzorka (178), dok EDS omogućuje kvantitativno određivanje glavnih elementarnih sastojaka (179). SIC je poznat po svojoj sposobnosti remineralizacije tvrdih zubnih tkiva zbog oslobađanja iona u oralnu okolinu što ga s biološkog aspekta čini bioaktivnim materijalom. Međutim, SIC se obično ne smatra bioaktivnim u užem smislu (180). Ključni kriterij za bioaktivnost prema HENCHU je stvaranje sloja hidroksiapatita koji posreduje u interakciji između materijala i žive kosti, potičući regeneraciju i integraciju tkiva (83) te stoga SIC-i nisu bioaktivni. Po definiciji, bioaktivni materijali u otopini koja sadrži fosfat talože kristale

apatita slične hidroksiapatitu na površini (68). Bioaktivnost je uočena u biokeramičkim materijalima (181). U tom smislu, dodavanje bioaktivnih staklenih čestica moglo bi rezultirati taloženjem kalcijevih fosfata na površini BAG-modificiranih SIC-a. Nekoliko in vitro studija pokazalo je da SIC modificiran bioaktivnim staklenim česticama uronjen u fiziološke tekućine poput SBF-a formira kristale slične apatitu na svojoj površini (182–185). Međutim, to nije potvrđeno u ovoj konkretnoj studiji jer SEM-EDS analiza nije pokazala kristale slične hidroksiapatitu na površini uzorka. Ipak, na površini većine uzoraka vidljivi su granularni talozi, vjerojatno zbog manipulacije uzorkom nakon postupka sušenja koje je uzorak učinilo krhkim i sklonim fragmentaciji. Prema sastavu precipitiranih čestica može se zaključiti da su u pitanju zdrobljeni fragmenti uzorka.

EDS analiza otkrila je karakteristične elementarne sastave u svim ispitivanim skupinama. Spektri komercijalnih skupina (E, F) pokazali su prisutnost elemenata tipičnih za konvencionalne staklenoionomerne cimente, uključujući Si, Al, Sr, Na, F i P. Nasuprot tome, uzorci modificirani bioaktivnim staklom (EB, FB, EF, FF) pokazali su dodatnu prisutnost kalcija, što potvrđuje uspješnu integraciju bioaktivnog stakla u sastav cementa. Ukupni elementarni profil komercijalnih staklenoionomera ostao je očuvan, s dominantnom prisutnošću Si, Al i Sr.

Fluor je detektiran u svim skupinama, a potječe i iz matriksa staklenoionomera i iz dodanog bioaktivnog stakla. Elementarni obrasci bili su konzistentni između Equia Forte i Fuji IX, što upućuje na usporedivo ponašanje oba materijala nakon modifikacije bioaktivnim staklom. Sličnost elementarnih profila nakon modifikacije sugerira da učinak bioaktivnog stakla nije ovisan o vrsti staklenoionomernog cementa, čime se dodatno naglašava primjenjivost ovog pristupa u različitim konvencionalnim staklenoionomernim sustavima. Sveukupno, EDS rezultati nadopunjuju mehaničke i kemijske analize u procjeni potencijala remineralizacije.

6. ZAKLJUČAK

Temeljem dobivenih rezultata i uz ograničenja ove *in vitro* studije možemo zaključiti:

1. Dodatak eksperimentalnih bioaktivnih stakala koji sadrže spojeve cinka i fluora značajno je povećao otpuštanje i ponovni primitak fluoridnih iona iz staklenoionomernih materijala Fuji IX i Equia Forte HT.
2. Svi materijali pokazali su *burst* efekt u otpuštanju iona fluora.
3. Oslobođanje F^- nakon ponovnog punjenja bilo je niže od oslobađanja nakon stvrđavanja materijala, ali je koncentracija iona F sporije padala i u komercijalnim materijalima i u njihovim modifikacijama.
4. Originalne formulacije Fuji IX i Equia Forte HT sadrže vrlo mali udio kalcijevog oksida.
5. Izlaganje Fuji IX kiselijem mediju značajno je povećalo oslobađanje kalcijevih iona, dok kisela okolina nije značajno utjecala na oslobađanje kalcijevih iona u Equia Forte HT.
6. Uzorci modificirani BAG-F-om u neutralnom i u kiselom mediju oslobodili su više iona kalcija od komercijalnih materijala Fuji IX i Equia Forte HT.
7. Povećano oslobađanje fluoridnih i kalcijevih iona može imati pozitivan karijesprotektivni učinak.
8. Modifikacija Fuji IX i Equia Forte HT eksperimentalnim bioaktivnim staklom BAG nije značajno utjecala na mikrotvrdoću nakon 24 sata i 7 dana.
9. Modifikacija Fuji IX i Equia Forte HT eksperimentalnim bioaktivnim staklom BAG-F-om značajno je smanjila mikrotvrdoću nakon 24 sata i nakon 7 dana.
10. Mikrotvrdoća komercijalnih materijala Fuji IX i Equia Forte HT te eksperimentalnih materijala modificiranih bioaktivnim staklima BAG i BAG-F porasla je tijekom vremena.
11. Fuji IX i njegove modifikacije pokazuju veću mikrotvrdoću od Equia Forte HT i njegovih modifikacija kod kojih nije korišten nano-punjeni premaz (eng. *coat*) nakon 24 sata i nakon 7 dana.
12. Dodavanje bioaktivnog stakla staklenoionomernim materijalima nije rezultiralo taloženjem kristala sličnih hidroksiapatitu na površini materijala.

7. LITERATURA

1. Jain N, Dutt U, Radenkov I, Jain S. WHO's global oral health status report 2022: Actions, discussion and implementation. *Oral Dis.* 2024;30(2):73–9.
2. Righolt AJ, Jevdjevic M, Marcenés W, Listl S. Global-, regional-, and country-level economic impacts of dental diseases in 2015. *J Dent Res.* 2018;97(5):501–7.
3. Scientific Committee on Emerging and Newly-Identified Health Risks (SCENIHR). Scientific opinion on the safety of dental amalgam and alternative dental restoration materials for patients and users (update) [Internet]. Luxembourg: European Commission; 2015 Apr 29 [cited 2025 Nov 18]. Available from: https://health.ec.europa.eu/publications/safety-dental-amalgam-and-alternative-dental-restoration-materials-patients-and-users_en
4. Schulze F. Adoption by the Council: Dental Amalgam will be banned by January 2025. *EnvMed Network* [Internet]. 2024 May 30 [cited 2025 Nov 18]. Available from: <https://environmentalmedicine.eu/adoption-by-the-council-dental-amalgam-will-be-banned-by-january-2025/>
5. Fisher J, Varenne B, Narvaez D, Vickers C. The Minamata Convention and the phase down of dental amalgam. *Bull World Health Organ.* 2018;96:436–8.
6. Sidhu S, Schmalz G. The biocompatibility of glass-ionomer cement materials: a status report for the American Journal of Dentistry. *Am J Dent.* 2002;14:387–96.
7. World Health Organization. Report of the informal global WHO consultation with policymakers in dental public health, 2021: monitoring country progress in phasing down the use of dental amalgam [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2021 [cited 2025 Jul 27]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240038424>
8. FDI World Dental Federation. Minimal intervention dentistry (MID) for managing dental caries [Internet]. Geneva: FDI World Dental Federation; [cited 2025 Jul 27]. Available from: <https://www.fdiworlddental.org/minimal-intervention-dentistry-mid-managing-dental-carries>

9. Sarrett DC. Clinical challenges and the relevance of materials testing for posterior composite restorations. *Dent Mater.* 2005;21(1):9–20.
10. World Health Organization. Global oral health status report: towards universal health coverage for oral health by 2030: regional summary of the Western Pacific Region [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2023 [cited 2025 Jul 27]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240070868>
11. Niu LN, Jiao K, Wang TD, Zhang W, Camilleri J, Bergeron BE, et al. A review of the bioactivity of hydraulic calcium silicate cements. *J Dent.* 2014;42(5):517–33.
12. Spagnuolo G. Bioactive Dental Materials: The Current Status. *Materials (Basel).* 2022;15:2016.
13. Filip DG, Surdu VA, Paduraru AV, Andronescu E. Current Development in Biomaterials-Hydroxyapatite and Bioglass for Applications in Biomedical Field: A Review. *J Funct Biomater.* 2022;13(4):248.
14. Wilson AD. Glass-ionomer cement-origins, development and future. *Clin Mater.* 1991;7(4):275–82.
15. Nicholson JW. Maturation processes in glass-ionomer dental cements. *Acta Biomater Odontol Scand.* 2018;4(1):63–71.
16. Sikka N, Brizuela M. Glass Ionomer Cement. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [cited 2025 Jun 10]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK582145/>
17. Khoroushi M, Keshani F. A review of glass-ionomers: From conventional glass-ionomer to bioactive glass-ionomer. *Dent Res J (Isfahan).* 2013;10(4):411–20.
18. Pavelić B. Steklenoionomerni cementi – provjerite i nadopunite Vaše znanje. *Sonda* [Internet]. 2004 [cited 2025 Jun 10];10(1):39-42. Available from: <https://hrcak.srce.hr/307973>
19. Šutalo J. Materijali za trajne ispune kaviteta. In: *Patologija i terapija tvrdih zubnih tkiva.* Zagreb: Naklada Zadro; 1994. p. 321–7.

20. Francisconi LF, Scaffa PMC, de Barros VR, Coutinho M, Francisconi PA. Glass ionomer cements and their role in the restoration of non-cariou cervical lesions. *J Appl Oral Sci.* 2009;17(5):364–9.
21. Sidhu SK, Nicholson JW. A Review of Glass-Ionomer Cements for Clinical Dentistry. *J Funct Biomater.* 2016 ;7(3):16.
22. Mount GJ. Esthetics with glass-ionomer cements and the “sandwich” technique. *Quintessence Int.* 1990;21(2):93-101.
23. Kampanas NS, Antoniadou M. Glass Ionomer Cements for the Restoration of Non-Cariou Cervical Lesions in the Geriatric Patient. *J Funct Biomater.* 2018;9(3):42.
24. Kunzelmann KH, Bürkle V, Bauer C. Two-body and three-body wear of glass ionomer cements. *Int J Paediatr Dent.* 2003;13(6):434–40.
25. McLean JW, Nicholson JW, Wilson AD. Proposed nomenclature for glass-ionomer dental cements and related materials. *Quintessence Int.* 1994;25(9):587–9.
26. Šalinović I, Stunja M, Schauerl Z, Verzak Ž, Ivanišević Malčić A, Brzović Rajić V. Mechanical Properties of High Viscosity Glass Ionomer and Glass Hybrid Restorative Materials. *Acta Stomatol Croat.* 2019;53(2):125–31.
27. Gurgan S, Kutuk ZB, Ergin E, Oztas SS, Cakir FY. Clinical performance of a glass ionomer restorative system: a 6-year evaluation. *Clin Oral Investig.* 2017;21(7):2335–43.
28. Gurgan S, Kutuk ZB, Yalcin Cakir F, Ergin E. A randomized controlled 10 years follow up of a glass ionomer restorative material in class I and class II cavities. *J Dent.* 2020;94:103175.
29. Smales RJ, Wong KC. 2-year clinical performance of a resin-modified glass ionomer sealant. *Am J Dent.* 1999;12(2):59–61.

30. Najeeb S, Khurshid Z, Zafar MS, Khan AS, Zohaib S, Martí JMN, et al. Modifications in Glass Ionomer Cements: Nano-Sized Fillers and Bioactive Nanoceramics. *Int J Mol Sci.* 2016;17(7):1134.
31. Baraba A, Miletić I. Healing deep carious lesions in the posterior region with a new micro-laminated glass ionomer cement. *GC Get Connect.* 2015;5:21–4.
32. GC America. EQUIA Forte®: Bulk Fill Glass Hybrid Restorative [Internet]. Alsip, IL: GC America; [cited 2025 Jun 10]. Available from: <https://www.gc.dental/america/products/operator/glass-hybrid-restoratives/equia-forte>
33. Priyanka Bhagat A. To evaluate and compare microleakage in teeth restored with Conventional Glass Ionomer Cement and two newer restorative materials EQUIA Forte and Cention N using Stereomicroscope. *J Adv Med Dent Sci Res.* 2020;8(8):163–7.
34. Nicholson JW, Czarnicka B, Limanowska-Shaw H. The long-term interaction of dental cements with lactic acid solutions. *J Mater Sci Mater Med.* 1999;10(8):449–52.
35. Okada K, Tosaki S, Hirota K, Hume WR. Surface hardness change of restorative filling materials stored in saliva. *Dent Mater.* 2001;17(1):34–9.
36. Nassar HM, Platt JA. Effect of brushing with two different abrasives on fluoride release by high-viscosity glass ionomer cement. *J Oral Sci.* 2015;57(4):379–84.
37. Featherstone JDB. Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1999;27(1):31–40.
38. Linčir I, et al. *Farmakologija za stomatologe.* 3rd ed. Zagreb: Medicinska naklada; 2011.
39. Rošin-Grget K, Peroš K, Šutej I, Bašić K. Cariostatic mechanisms of fluorides. *Acta Medica Acad.* 2013;42:179–88.

40. Nassar Y, Brizuela M. The Role of Fluoride on Caries Prevention. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 [cited 2025 Jul 28]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK587342/>
41. Margolis HC, Moreno EC. Physicochemical perspectives on the cariostatic mechanisms of systemic and topical fluorides. *J Dent Res.* 1990;69:606-36.
42. Van Loveren C. The antimicrobial action of fluoride and its role in caries inhibition. *J Dent Res.* 1990;69:676–83.
43. Nedeljkovic I, De Munck J, Vanloy A, Declerck D, Lambrechts P, Peumans M, et al. Secondary caries: prevalence, characteristics, and approach. *Clin Oral Investig.* 2020;24(2):683–91.
44. Ruengrungsom C, Burrow MF, Parashos P, Palamara JEA. Evaluation of F, Ca, and P release and microhardness of eleven ion-leaching restorative materials and the recharge efficacy using a new Ca/P containing fluoride varnish. *J Dent.* 2020;102:103474.
45. Schwendicke F, Frencken JE, Bjørndal L, Maltz M, Manton DJ, Ricketts D, et al. Managing Carious Lesions: Consensus Recommendations on Carious Tissue Removal. *Adv Dent Res.* 2016;28(2):58–67.
46. Toledano M, Osorio R, Vallecillo-Rivas M, Osorio E, Lynch CD, Aguilera FS, et al. Zn-doping of silicate and hydroxyapatite-based cements: Dentin mechanobiology and bioactivity. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2021;114:104232.
47. Shahid S, Hassan U, Billington RW, Hill RG, Anderson P. Glass ionomer cements: Effect of strontium substitution on esthetics, radiopacity and fluoride release. *Dent Mater.* 2014;30(3):308–13.
48. Mitrović, B. Suvremeni restaurativni materijali temeljeni na staklenim ionomerima [master's thesis]. Zagreb: Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu; 2021. 39 p.

49. De Witte AM, De Maeyer EA, Verbeeck RM, Martens LC. Fluoride release profiles of mature restorative glass ionomer cements after fluoride application. *Biomaterials*. 2000;21(5):475–82.
50. Francois P, Fouquet V, Attal JP, Dursun E. Commercially Available Fluoride-Releasing Restorative Materials: A Review and a Proposal for Classification. *Materials (Basel)*. 2020;13(10):2313.
51. Wiegand A, Buchalla W, Attin T. Review on fluoride-releasing restorative materials--fluoride release and uptake characteristics, antibacterial activity and influence on caries formation. *Dent Mater*. 2007;23(3):343–62.
52. Nicholson JW, Coleman NJ, Sidhu SK. Kinetics of ion release from a conventional glass-ionomer cement. *J Mater Sci Mater Med*. 2021;32(4):30.
53. Kim YK, Yiu CKY, Kim JR, Gu L, Kim SK, Weller RN, et al. Failure of a Glass Ionomer to Remineralize Apatite-depleted Dentin. *J Dent Res*. 2010;89(3):230–5.
54. Mickenautsch S, Mount G, Yengopal V. Therapeutic effect of glass-ionomers: an overview of evidence. *Aust Dent J*. 2011;56(1):10–5.
55. Kumari PD, Khijmatgar S, Chowdhury A, Lynch E, Chowdhury CR. Factors influencing fluoride release in atraumatic restorative treatment (ART) materials: A review. *J Oral Biol Craniofacial Res*. 2019;9(4):315–20.
56. Awosanya K, Nicholson J. A study of phosphate ion release from glass-ionomer dental cements. *Ceram - Silik*. 2014;58:210–4.
57. Bonferoni MC, Caramella C, Catenacci L, Conti B, Dorati R, Ferrari F, et al. Biomaterials for Soft Tissue Repair and Regeneration: A Focus on Italian Research in the Field. *Pharmaceutics*. 2021;13(9):1341.
58. Tabatabaei F, Torres R, Tayebi L. Biomedical Materials in Dentistry. In Tayebi L, editor. *Applications of Biomedical Engineering in Dentistry*. Cham: Springer Nature Switzerland AG; 2020. p. 3–20.

59. Fernandes HR, Gaddam A, Rebelo A, Brazete D, Stan GE, Ferreira JMF. Bioactive Glasses and Glass-Ceramics for Healthcare Applications in Bone Regeneration and Tissue Engineering. *Materials (Basel)*. 2018;11(12):2530.
60. Najeeb S, Khurshid Z, Ghabbani H, Zafar MS, Sefat F. Nano glass ionomer cement: modification for biodental applications. In: Khurshid Z, Najeeb S, Zafar MS, Sefat F, editors. *Advanced Dental Biomaterials* [Internet]. Woodhead Publishing; 2019 [cited 2025 Jul 15]. p. 217–27. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081024768000104>
61. Zafar MS, Khurshid Z, Almas K. Oral tissue engineering progress and challenges. *Tissue Eng Regen Med*. 2015;12(6):387–97.
62. Odatsu T, Azimaie T, Velten MF, Vu M, Lyles MB, Kim HS, et al. Human Periosteum Cell Osteogenic Differentiation Enhanced by Ionic Silicon Release from Porous Amorphous Silica Fibrous Scaffolds. *J Biomed Mater Res A*. 2015;103(8):2797–806.
63. Greenspan DC. Developments in biocompatible glass compositions. *Medical Device & Diagnostic Industry* [Internet]. 1999 [cited 2025 Jul 15]; ;26(3):[about 5 p.]. Available from: <https://www.mddionline.com/medical-device-markets/developments-in-biocompatible-glass-compositions>
64. Ali S, Farooq I, Iqbal K. A review of the effect of various ions on the properties and the clinical applications of novel bioactive glasses in medicine and dentistry. *Saudi Dent J*. 2014;26(1):1–5.
65. Kobayashi M, Saito H, Mase T, Sasaki T, Wang W, Tanaka Y, et al. Polarization of hybridized calcium phosphoaluminosilicates with 45S5-type bioglasses. *Biomed Mater*. 2010;5(2):025001.
66. Lowe B, Ottensmeyer MP, Xu C, He Y, Ye Q, Troulis MJ. The Regenerative Applicability of Bioactive Glass and Beta-Tricalcium Phosphate in Bone Tissue Engineering: A Transformation Perspective. *J Funct Biomater*. 2019;10(1):16.

67. Ferreira MM, Brito AF, Brazete D, Pereira IC, Carrilho E, Abrantes AM, et al. Doping β -TCP as a Strategy for Enhancing the Regenerative Potential of Composite β -TCP—Alkali-Free Bioactive Glass Bone Grafts. Experimental Study in Rats. *Materials (Basel)*. 2018;12(1):4
68. Hench LL. Bioceramics. *J Am Ceram Soc*. 1998;81(7):1705–28.
69. Thuy TT, Nakagaki H, Kato K, Hung PA, Inukai J, Tsuboi S, et al. Effect of strontium in combination with fluoride on enamel remineralisation in vitro. *Arch Oral Biol*. 2008;53(11):1017–22.
70. Brauer DS, Karpukhina N, Law RV, Hill RG. Structure of fluoride-containing bioactive glasses. *J Mater Chem*. 2009;19(31):5629–36.
71. Elgayar I, Aliev AE, Boccaccini AR, Hill RG. Structural analysis of bioactive glasses. *J Non-Cryst Solids*. 2005;351(2):173–83.
72. Wallace KE, Hill RG, Pembroke JT, Brown CJ, Hatton PV. Influence of sodium oxide content on bioactive glass properties. *J Mater Sci Mater Med*. 1999;10(12):697–701.
73. Olmo N, Martín AI, Salinas AJ, Turnay J, Vallet-Regí M, Lizarbe MA. Bioactive sol–gel glasses with and without a hydroxycarbonate apatite layer as substrates for osteoblast cell adhesion and proliferation. *Biomaterials*. 2003;24(20):3383–93.
74. Lynch E, Brauer DS, Karpukhina N, Gillam DG, Hill RG. Multi-component bioactive glasses of varying fluoride content for treating dentin hypersensitivity. *Dent Mater*. 2012;28(2):168–78.
75. Brauer DS, Karpukhina N, O'Donnell MD, Law RV, Hill RG. Fluoride-containing bioactive glasses: Effect of glass design and structure on degradation, pH and apatite formation in simulated body fluid. *Acta Biomater*. 2010;6(8):3275–82.
76. Dahl SG, Allain P, Marie PJ, Mauras Y, Boivin G, Ammann P, et al. Incorporation and distribution of strontium in bone. *Bone*. 2001;28(4):446–53.

77. Fredholm YC, Karpukhina N, Brauer DS, Jones JR, Law RV, Hill RG. Influence of strontium for calcium substitution in bioactive glasses on degradation, ion release and apatite formation. *J R Soc Interface*. 2011;9(70):880–9.
78. Gentleman E, Fredholm YC, Jell G, Lotfibakhshaiesh N, O'Donnell MD, Hill RG, et al. The effects of strontium-substituted bioactive glasses on osteoblasts and osteoclasts in vitro. *Biomaterials*. 2010;31(14):3949–56.
79. Addy M, Mostafa P, Newcombe R. Dentine hypersensitivity: a comparison of five toothpastes used during a 6-week treatment period. *Br Dent J*. 1987;163(2):45–51.
80. Aina V, Perardi A, Bergandi L, Malavasi G, Menabue L, Morterra C, et al. Cytotoxicity of zinc-containing bioactive glasses in contact with human osteoblasts. *Chem Biol Interact*. 2007;167(3):207–18.
81. Brandão-Neto J, Stefan V, Mendonça BB, Bloise W, Castro AVB. The essential role of zinc in growth. *Nutr Res*. 1995;15(3):335–58.
82. Zehnder M, Luder HU, Schätzle M, Kerosuo E, Waltimo T. A comparative study on the disinfection potentials of bioactive glass S53P4 and calcium hydroxide in contra-lateral human premolars ex vivo. *Int Endod J*. 2006;39(12):952–8.
83. Hench LL. The story of Bioglass®. *J Mater Sci Mater Med*. 2006;17(11):967–78.
84. Fu Q, Rahaman MN, Fu H, Liu X. Silicate, borosilicate, and borate bioactive glass scaffolds with controllable degradation rate for bone tissue engineering applications. I. Preparation and in vitro degradation. *J Biomed Mater Res A*. 2010;95(1):164–71.
85. Ducheyne P, Qiu Q. Bioactive ceramics: the effect of surface reactivity on bone formation and bone cell function. *Biomaterials*. 1999;20(23):2287–303.
86. Drago L, Vecchi ED, Bortolin M, Toscano M, Mattina R, Romanò CL. Antimicrobial Activity and Resistance Selection of Different Bioglass S53P4 Formulations Against Multidrug Resistant Strains. *Future Microbiol*. 2015;10(8):1293–9.

87. Bortolin M, De Vecchi E, Romanò CL, Toscano M, Mattina R, Drago L. Antibiofilm agents against MDR bacterial strains: is bioactive glass BAG-S53P4 also effective? *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(1):123–7.
88. Coraça-Huber DC, Fille M, Hausdorfer J, Putzer D, Nogler M. Efficacy of antibacterial bioactive glass S53P4 against *S. aureus* biofilms grown on titanium discs in vitro. *J Orthop Res.* 2014;32(1):175–7.
89. Galarraga-Vinueza ME, Mesquita-Guimarães J, Magini RS, Souza JCM, Fredel MC, Boccaccini AR. Anti-biofilm properties of bioactive glasses embedding organic active compounds. *J Biomed Mater Res A.* 2017;105(2):672–9.
90. Begum S, Johnson WE, Worthington T, Martin RA. The influence of pH and fluid dynamics on the antibacterial efficacy of 45S5 Bioglass. *Biomed Mater.* 2016;11(1):015006.
91. Allan I, Newman H, Wilson M. Antibacterial activity of particulate Bioglass® against supra- and subgingival bacteria. *Biomaterials.* 2001;22(12):1683–7.
92. Drago L, Vassena C, Fenu S, Vecchi ED, Signori V, Francesco RD, et al. In vitro Antibiofilm Activity of Bioactive Glass S53P4. *Future Microbiol.* 2014;9(5):593–601.
93. Rahaman MN, Bal BS, Huang W. Review: Emerging developments in the use of bioactive glasses for treating infected prosthetic joints. *Mater Sci Eng C.* 2014;41:224–31.
94. Abushahba F, Söderling E, Aalto-Setälä L, Sangder J, Hupa L, O Närhi T. Antibacterial properties of bioactive glass particle abraded titanium against *Streptococcus mutans*. *Biomed Phys Eng Express.* 2018;4(4).
95. Efflandt SE, Magne P, Douglas WH, Francis LF. Interaction between bioactive glasses and human dentin. *J Mater Sci Mater Med.* 2002;13(6):557–65.
96. Forsback AP, Areva S, Salonen J. Mineralization of dentin induced by treatment with bioactive glass S53P4 in vitro. *Acta Odontol Scand.* 2004;62:14–20.

97. Sepulveda P, Jones JR, Hench LL. Characterization of melt-derived 45S5 and sol-gel-derived 58S bioactive glasses. *J Biomed Mater Res.* 2001;58(6):734–40.
98. Hannig M, Hannig C. Nanomaterials in preventive dentistry. *Nat Nanotechnol.* 2010;5(8):565–9.
99. Vollenweider M, Brunner TJ, Knecht S, Grass RN, Zehnder M, Imfeld T, et al. Remineralization of human dentin using ultrafine bioactive glass particles. *Acta Biomater.* 2007;3(6):936–43.
100. Sauro S, Osorio R, Watson TF, Toledano M. Therapeutic effects of novel resin bonding systems containing bioactive glasses on mineral-depleted areas within the bonded-dentine interface. *J Mater Sci Mater Med.* 2012;23(6):1521–32.
101. Crovace M, Souza M, Chinaglia C, Peitl O, Zanotto E. Biosilicate® — A multipurpose, highly bioactive glass-ceramic. In vitro, in vivo and clinical trials. *J Non-Cryst Solids.* 2015;432.
102. Banerjee A, Hajatdoost-Sani M, Farrell S, Thompson I. A clinical evaluation and comparison of bioactive glass and sodium bicarbonate air-polishing powders. *J Dent.* 2010;38(6):475–9.
103. Thongsri O, Srisuwan S, Thaitalay P, Dangwiriyaikul R, Chanlek N, Talabnin C, et al. Fluoride release and uptake characteristics of the sol-gel derived glass ionomer cement modified with fluoride containing strontium-based bioactive glass nanoparticles. *J Sol-Gel Sci Technol.* 2023;105:1–14.
104. Sleibi A, Tappuni AR, Karpukhina NG, Hill RG, Baysan A. A comparative evaluation of ion release characteristics of three different dental varnishes containing fluoride either with CPP-ACP or bioactive glass. *Dent Mater.* 2019;35(12):1695–705.
105. Raszewski Z, Nowakowska D, Wieckiewicz W, Nowakowska-Toporowska A. Release and Recharge of Fluoride Ions from Acrylic Resin Modified with Bioactive Glass. *Polymers (Basel).* 2021;13(7):7.

106. Tezvergil-Mutluay A, Seseogullari-Dirihan R, Feitosa VP, Cama G, Brauer DS, Sauro S. Effects of Composites Containing Bioactive Glasses on Demineralized Dentin. *J Dent Res.* 2017;96(9):999–1005.
107. Prabhakar A, Paul M J, Basappa N. Comparative Evaluation of the Remineralizing Effects and Surface Micro hardness of Glass Ionomer Cements Containing Bioactive Glass (S53P4):An in vitro Study. *Int J Clin Pediatr Dent.* 2010;3(2):69–77.
108. Yli-Urpo H, Närhi M, Närhi T. Compound changes and tooth mineralization effects of glass ionomer cements containing bioactive glass (S53P4), an in vivo study. *Biomaterials.* 2005;26(30):5934–41.
109. Khoroushi M, Mousavinasab SM, Keshani F, Hashemi S. Effect of resin-modified glass ionomer containing bioactive glass on the flexural strength and morphology of demineralized dentin. *Oper Dent.* 2013;38(2):E1-10.
110. Khvostenko D, Mitchell JC, Hilton TJ, Ferracane JL, Kruzic JJ. Mechanical performance of novel bioactive glass containing dental restorative composites. *Dent Mater.* 2013;29(11):1139-48
111. Zandi Karimi A, Rezabeigi E, Drew RAL. Glass ionomer cements with enhanced mechanical and remineralizing properties containing 45S5 bioglass-ceramic particles. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2019;97:396–405.
112. Skallevold HE, Rokaya D, Khurshid Z, Zafar MS. Bioactive Glass Applications in Dentistry. *Int J Mol Sci.* 2019;20(23):5960.
113. Miletić I, Baraba A, Krmek SJ, Perić T, Marković D, Basso M, et al. Clinical performance of a glass-hybrid system in comparison with a resin composite in two-surface class II restorations: a 5-year randomised multi-centre study. *Clin Oral Investig.* 2024;28(1):104.
114. Brkanović S, Ivanišević A, Miletić I, Mezdić D, Jukić Krmek S. Effect of Nano-Filled Protective Coating and Different pH Environment on Wear Resistance of New Glass Hybrid Restorative Material. *Materials (Basel).* 2021;14(4):755.

115. Şakar-Deliormanli A, Güden M. Microhardness and fracture toughness of dental materials by indentation method. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2006;76B(2):257–64.
116. Igarashi S, Bentur A, Mindess S. Microhardness testing of cementitious materials. *Adv Cem Based Mater.* 1996;4(2):48–57.
117. Wu H, Dave F, Mokhtari M, Ali MM, Sherlock R, McIlhagger A, et al. On the Application of Vickers Micro Hardness Testing to Isotactic Polypropylene. *Polymers (Basel).* 2022;14(9):1804.
118. Elsevier B.V. Fourier transform infrared spectroscopy – an overview. *ScienceDirect Topics [Internet].* [cited 2025 Dec 30] ;[about 1 p.]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/fourier-transform-infrared-spectroscopy>
119. Gualerzi A, Picciolini S, Carlomagno C, Rodà F, Bedoni M. Biophotonics for diagnostic detection of extracellular vesicles. *Adv Drug Deliv Rev.* 2021;174:229–49.
120. Shimadzu Corporation. What is ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry)? Shimadzu [Internet]. 2024 May 19 [cited 2025 Dec 30] ;[about 1 p.]. Available from: <https://www.shimadzu.com/an/service-support/technical-support/inductively-coupled-plasma-mass-spectrometry/overview/what-is-icp-ms.html>
121. Wilschefski SC, Baxter MR. Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: Introduction to Analytical Aspects. *Clin Biochem Rev.* 2019;40(3):115–33.
122. Hrvatski strukovni nazivi – Struna. Ionski selektivna elektroda [Internet]. Zagreb: Institut za hrvatski jezik i jezikoslovlje; [cited 2026 May 27].
123. Samp J. Understanding Ion Selective Electrodes (ISEs) and Their Applications. *Sensorex Liquid Analysis Technology [Internet].* 2025 Jan 6 [cited

- 2025 Dec 30] ;[about 1 p.]. Available from: <https://sensorex.com/ion-selective-electrodes/>
124. ChemistRn. Ion selective electrode (ISE): principle, types, advantages and limitations. Chemistry Notes [Internet]. 2022 Sep 8 [cited 2026 Mar 24];[about 1 p.]. Available from: https://chemistnotes.com/analytical_chemistry/ion-selective-electrodeise-principle-types-advantages-and-limitations/
125. Ion-selective electrodes. In: Encyclopedia of Analytical Science [Internet]. 2013 Jan 1.
126. United States Environmental Protection Agency. SW-846 Test Method 9214: Potentiometric determination of fluoride in aqueous samples with ion-selective electrode [Internet]. Washington (DC): US EPA; 2015 [cited 2026 May 27]. Available from: <https://www.epa.gov/hw-sw846/sw-846-test-method-9214-potentiometric-determination-fluoride-aqueous-samples-ion>
127. Garoushi S, Vallittu P, Lassila L. Development and characterization of ion-releasing fiber-reinforced flowable composite. Dent Mater. 2022 Oct;38(10):1598–609.
128. Bjorvatn K, Mørch T. The calcium selective electrode—a possible tool in dental research. Acta Odontol Scand. 1979;37(5):259–65.
129. EMCO-Test. Vickers hardness test procedure – theory of the hardness test. EMCO-Test [Internet]. [cited 2026 Mar 24];[about 1 p.]. Available from: <https://www.emcotest.com/en/hardness-knowledge/overview-of-hardness-testing-methods/vickers-hardness-test>
130. Microbe Notes. Scanning electron microscope (SEM): principle, parts, uses. Microbe Notes [Internet]. 2024 [cited 2025 Dec 30];[about 1 p.]. Available from: <https://microbenotes.com/scanning-electron-microscope-sem/>
131. Nanoscience Instruments. Scanning electron microscopy. Nanoscience Instruments [Internet]. [cited 2025 Dec 30];[about 1 p.]. Available from: <https://www.nanoscience.com/techniques/scanning-electron-microscopy>

132. MyScope. Specimen preparation – SEM. MyScope [Internet]. [cited 2025 Dec 30];[about 1 p.]. Available from: https://myscope.training/SEM_Specimen_preparation
133. Hou V. The Power of SEM-EDS in Imaging and Elemental Analysis. EAG Laboratories [Internet]. 2023 Dec 13 [cited 2026 Jan 3] ;[about 1 p.]. Available from: <https://www.eag.com/blog/the-power-of-sem-eds-in-imaging-and-elemental-analysis/>
134. Groh D, Döhler F, Brauer DS. Bioactive glasses with improved processing. Part 1. Thermal properties, ion release and apatite formation. *Acta Biomater.* 2014;10(10):4465–73.
135. Taqa AA, Abdal A k, Dawood AI. The Effect of pH on Fluoride Release of Glass Ionomer Based Restorative Materials. *Int J Dent Sci Res.* 2016;4(3):52–7.
136. International Organization for Standardization. ISO 9917-1:2005 Dentistry—Water-Based Cements—Part 1: Powder/Liquid Acid-Base Cements [Internet]. Geneva, Switzerland:ISO; 2025 [cited 2025 Jul 30]. Available from: <https://www.iso.org/standard/76037.html>
137. International Organization for Standardization. ISO 19448:2018 Dentistry—Analysis of Fluoride Concentration in Aqueous Solutions by Use of Fluoride Ion-Selective Electrode [Internet]. Geneva, Switzerland:ISO; 2018 [cited 2025 Jul 30]. Available from: <https://www.iso.org/standard/64927.html>
138. SynThera. FTIR Analysis of Bioactive Glass [Internet]. 2025 Dec 9 [cited 2026 May 27]. Available from: <https://synthera.in/ftir-analysis-of-bioactive-glass-understanding-structure-and-surface-reactions/>
139. Al-Amin K, Kawsar M, Bhuiyan Mamun MTR, Hossain MS. Fourier transform infrared spectroscopic technique for analysis of inorganic materials: a review. *Nanoscale Adv.* 2025;7(21):6677–702.
140. Pellizzari VA, Michels AC, Luiz ST, Souza E de, Tabchoury CPM, Rached RN. Fluoride Ion Release of Self-Adhesive Resin Cements and Their Potential to

- Inhibit In Situ Enamel and Dentin Demineralization. *Oper Dent.* 2017;42(5):548–58.
141. Mayanagi G, Igarashi K, Washio J, Domon-Tawaraya H, Takahashi N. Effect of fluoride-releasing restorative materials on bacteria-induced pH fall at the bacteria–material interface: An in vitro model study. *J Dent.* 2014;42(1):15–20.
142. Neel EAA, Aljabo A, Strange A, Ibrahim S, Coathup M, Young AM, et al. Demineralization-remineralization dynamics in teeth and bone. *Int J Nanomedicine.* 2016;11:4743–63.
143. Li Y, Liu M, Xue M, Kang Y, Liu D, Wen Y, et al. Engineered Biomaterials Trigger Remineralization and Antimicrobial Effects for Dental Caries Restoration. *Molecules.* 2023;28(17):6373.
144. Xu J, Shi H, Luo J, Yao H, Wang P, Li Z, et al. Advanced materials for enamel remineralization. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022;10:985881.
145. Kim HJ, Bae HE, Lee JE, Park IS, Kim HG, Kwon J, et al. Effects of bioactive glass incorporation into glass ionomer cement on demineralized dentin. *Sci Rep.* 2021;11(1):7016.
146. Ilie N. Maturation of restorative glass ionomers with simplified application procedure. *J Dent.* 2018;79:46–52.
147. Zainuddin N, Karpukhina N, Hill RG, Law RV. A long-term study on the setting reaction of glass ionomer cements by (^{27}Al) MAS-NMR spectroscopy. *Dent Mater.* 2009;25(3):290–5.
148. Peutzfeldt A, García-Godoy F, Asmussen E. Surface hardness and wear of glass ionomers and compomers. *Am J Dent.* 1997;10(1):15–7.
149. Nicholson JW, Czarnecka B. Maturation affects fluoride uptake by glass-ionomer dental cements. *Dent Mater.* 2012;28(2):e1–5.
150. Arends J, Christoffersen J. Nature and role of loosely bound fluoride in dental caries. *J Dent Res.* 1990;69 Spec No:601–36.

151. Kampanas NS, Antoniadou M. Glass Ionomer Cements for the Restoration of Non-Carious Cervical Lesions in the Geriatric Patient. *J Funct Biomater*. 2018;9(3):42.
152. Mickenautsch S, Mount G, Yengopal V. Therapeutic effect of glass-ionomers: an overview of evidence. *Aust Dent J*. 2011;56(1):10–5.
153. El-Adl ET, Ebaya MM, Habib ESE, Zaghoul NM. Comparative measurement of short-term fluoride release and inhibition of caries around restoration by ion releasing restorative materials: an in vitro study. *Sci Rep*. 2025;15(1):1600.
154. Featherstone JD, Glena R, Shariati M, Shields CP. Dependence of in vitro demineralization of apatite and remineralization of dental enamel on fluoride concentration. *J Dent Res*. 1990;69 Spec No:620–36.
155. Darling, M, Hill, R. Novel polyalkenoate (glass-ionomer) dental cements based on zinc silicate glasses. 1994;15(4):299–306.
156. GC Asia Dental Pte Ltd. GC Fuji IX family brochure [Internet]. Singapore: GC Asia Dental [cited 2025 Jul 30]. Available from: <https://www.gc.dental/sea/sites/sea.gc.dental/files/products/downloads/gcfujiixart/brochure/gc-fuji-ix-family-brochure.pdf>
157. Habib SI. Fluoride releasing/recharging ability of bulk-fill and resin-modified glass ionomer cements after the application of different surface coating agents: an in vitro study. *Adv Dent J*. 2020;2(3):80–92.
158. Wawrzyńczak A, Kłos J, Nowak I, Czarnecka B, Wawrzyńczak A, Kłos J, et al. Surface Studies on Glass Powders Used in Commercial Glass-Ionomer Dental Cements. *Molecules*. 2021;26(17).
159. Aliberti A, Garcia-Godoy F, Borges ALS, Tribst JPM, Gasparro R, Mariniello M, et al. Calcium, phosphate and fluoride ionic release from dental restorative materials for elderly population: an in vitro analysis. *Front Oral Health*. 2025;6:1609502.

160. Kuhn AT, Jones MP. A model for the dissolution and fluoride release from dental cements. *Biomater Med Devices Artif Organs*. 1983;10(4):281–93.
161. Czarnecka B, Limanowska-Shaw H, Nicholson JW. Buffering and ion-release by a glass-ionomer cement under near-neutral and acidic conditions. *Biomaterials*. 2002;23(13):2783–8.
162. Ngo HC, Mount G, Mc Intyre J, Tuisuva J, Von Doussa RJ. Chemical exchange between glass-ionomer restorations and residual carious dentine in permanent molars: an in vivo study. *J Dent*. 2006;34(8):608–13.
163. Dai LL, Mei ML, Chu CH, Lo ECM. Remineralizing effect of a new strontium-doped bioactive glass and fluoride on demineralized enamel and dentine. *J Dent*. 2021;108:103633.
164. Pelepenko LE, Marciano MA, Francati TM, Bombarda G, Bessa Marconato Antunes T, Sorrentino F, et al. Can strontium replace calcium in bioactive materials for dental applications? *J Biomed Mater Res A*. 2022;110(12):1892–911.
165. Fredholm YC, Karpukhina N, Law RV, Hill RG. Strontium containing bioactive glasses: Glass structure and physical properties. *J Non-Cryst Solids*. 2010;356(44):2546–51.
166. Fredholm YC, Karpukhina N, Brauer DS, Jones JR, Law RV, Hill RG. Influence of strontium for calcium substitution in bioactive glasses on degradation, ion release and apatite formation. *J R Soc Interface*. 2012;9(70):880–9.
167. Featherstone JD, Shields CP, Khademazad B, Oldershaw MD. Acid reactivity of carbonated apatites with strontium and fluoride substitutions. *J Dent Res*. 1983;62(10):1049–53.
168. Abuzinadah AJ, Merdad YMA, Aldharrab RS, Almutairi WA, Yeslam HE, Hasanain FA. Microhardness and Compressive Strength of Bulk Fill Glass Hybrid Material and Other Direct Restorative Materials. *J Compos Sci*. 2024;8(12):508.

169. Bilge K, Aşar E, Ipek İ. Evaluation of Flexural Strength and Microhardness of Different Type Glass Ionomer Cements. *Eur Ann Dent Sci.* 2024;51(1):10-4.
170. Jafarpour D, Mese A, Ferooz M, Bagheri R. The effects of nanofilled resin-based coatings on the physical properties of glass ionomer cement restorative materials. *J Dent.* 2019;89:103177.
171. Moshaverinia M, Navas A, Jahedmanesh N, Shah KC, Moshaverinia A, Ansari S. Comparative evaluation of the physical properties of a reinforced glass ionomer dental restorative material. *J Prosthet Dent.* 2019;122(2):154–9.
172. Franić K, Brundić A, Matijević J, Ivanišević A, Miletić I, Baraba A. Influence of Human Blood Contamination on Microhardness of Glass-Ionomer Cements and Glass-Hybrid Material. *Materials (Basel).* 2025;18(17):4075.
173. Matsuya S, Matsuya Y, Ohta M. Structure of Bioactive Glass and its Application to Glass Ionomer Cement. *Dent Mater J.* 1999;18(2):155–66.
174. Zoergiebel J, Ilie N. Evaluation of a conventional glass ionomer cement with new zinc formulation: Effect of coating, aging and storage agents. *Clin Oral Investig.* 2013;17(2):619-26.
175. Kim KH, Ong JL, Okuno O. The effect of filler loading and morphology on the mechanical properties of contemporary composites. *J Prosthet Dent.* 2002;87(6):642–9.
176. Li Y, Swartz ML, Phillips RW, Moore BK, Roberts TA. Materials Science Effect of Filler Content and Size on Properties of Composites. *J Dent Res.* 1985;64(12):1396–403.
177. Dionysopoulos D, Gerasimidou O, Papadopoulos C. Modifications of Glass Ionomer Cements Using Nanotechnology: Recent Advances. *Recent Prog Mater.* 2022;4(2):1-17.

178. Sinjari B, D'Addazio G, Bozzi M, Santilli M, Traini T, Murmura G, et al. SEM Analysis of Enamel Abrasion after Air Polishing Treatment with Erythritol, Glycine and Sodium Bicarbonate. *Coatings*. 2019;9(9):549.
179. Bakry AS, Abbassy MA, Alharkan HF, Basuhail S, Al-Ghamdi K, Hill R, et al. A Novel Fluoride Containing Bioactive Glass Paste is Capable of Re-Mineralizing Early Caries Lesions. *Materials (Basel)*. 2018;11(9):1636.
180. Tuygunov N, Khairunnisa Z, Yahya NA, Aziz AA, Zakaria MN, Israilova NA, et al. Bioactivity and remineralization potential of modified glass ionomer cement: A systematic review of the impact of calcium and phosphate ion release. *Dent Mater J*. 2024;43(1):1–10.
181. LeGeros RZ, Daculsi G, LeGeros JP. Bioactive Bioceramics. In: Pietrzak WS, editor. *Musculoskeletal Tissue Regeneration: Biological Materials and Methods* [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press; 2008 [cited 2025 Oct 3]. p. 153–81. Available from: https://doi.org/10.1007/978-1-59745-239-7_8
doi:10.1007/978-1-59745-239-7_8
182. De Caluwé T, Vercruyse CWJ, Ladik I, Convents R, Declercq H, Martens LC, et al. Addition of bioactive glass to glass ionomer cements: Effect on the physico-chemical properties and biocompatibility. *Dent Mater*. 2017;33(4):e186–203.
183. Hamdy T. Bioactivity: A New Buzz in Dental Materials. *EC Dent Sci*. 2018;17(8): 1278-83.
184. Moraes J, Moraes T, Nunes F, Carvalho E, Nunes G, Carvalho C, et al. Formation of hydroxyapatite nanoprecursors by the addition of bioactive particles in resin-modified glass ionomer cements. *Int J Adhes Adhes*. 2021;110:102933.
185. Yli-Urpo H, Lassila LVJ, Närhi T, Vallittu PK. Compressive strength and surface characterization of glass ionomer cements modified by particles of bioactive glass. *Dent Mater*. 2005;21(3):201–9.

8. ŽIVOTOPIS I POPIS OBJAVLJENIH RADOVA

Antonela Šošić rođena je u Splitu. Nakon završetka Franjevačke klasične gimnazije u Sinju upisuje Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Dobitnica je Dekanove nagrade za najbolji uspjeh tijekom treće godine studija. Poslijediplomski doktorski studij upisuje 2019. godine. Zaposlena je u Domu zdravlja Splitsko-dalmatinske županije, a 2026. izabrana je za specijalizanticu iz ortodoncije za potrebe Zavoda za maksilofacijalnu kirurgiju KBC-a Split.

POPIS RADOVA

i) Radovi objavljeni u časopisima u WoS Science Citation Index Expanded (WoS SCIE) - kvartil prema Journal Citation Reports (JCR)

Šošić A, Šalinović I, Sauro S, Nemet I, Ilić N, Rončević S, Ivanišević, A. Evaluation of fluoride and calcium ion release and fluoride recharge capacity of glass-ionomer materials modified with experimental bioactive glass. *Sci Rep.* 2025.;15(1):40212. (Q1) *rad proizašao iz doktorskog istraživanja*

Rakić M, Ivanišević A, Baraba A, Čekalović Agović S, Šošić A, Klarić E. Blue laser for polymerization of bulk fill composites: Influence on dentin bond strength and temperature rise during curing and co-curing method. *Lasers Med Sci.* 2024;39(1):93. (Q2)

ii) Radovi objavljeni u časopisima u drugim bazama (WoS ESCI, Scopus itd.)

Šošić A, Šalinović I, Brzović Rajić V, Ivanišević Malčić A, Jukić Krmek S, Miletić I. Assessment of damage of Endodontic Instruments with Naked Eye and Optical Instruments. *Acta stomatol Croat.* 2021;55(2):129-36. (Q2)

Šošić A, Šalinović I, Miletić I, Sauro S, Kekez I, Ivanišević A. Microhardness and chemical composition of glass ionomer and glass hybrid cements modified with experimental bioactive glasses. *Acta Stomatol Croat.* 2026;60(2):158-72. (Q2) **rad proizašao iz doktorskog istraživanja**

iii) Sažetci s međunarodnih i domaćih kongresa

Šošić A, Šalinović I, Ivanišević A, Ivica A, Sauro S, Miletić I. Mechanical Properties of Bioglass-Reinforced Glass Hybrid Material. 2024 IADR/AADOCR/CADR General Session & Exhibition, New Orleans, USA, March 13–16, 2024. (*međunarodni, poster prezentacija rezultata doktorata*)

Šošić A, Šalinović I, Miletić I, Ivanišević A. Release of fluoride ions from materials based on glass ionomer cements modified with bioactive glass. 8th International Congress “Science and Clinical Work Sinergy“, Zagreb, Croatia, October 11-12, 2024. (*međunarodni, oralna prezentacija rezultata doktorata*)

Šošić A, Šalinović I, Miletić I, Ivanišević A. Release of calcium ions from bioactive glass modified materials based on glass ionomer cements. 10th International Congress of School of Dental Medicine, Zagreb, Croatia, April 11-12, 2025. (*međunarodni, oralna prezentacija rezultata doktorata*)